

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ANÁLISIS ESTRUCTURAL, QUÍMICO Y DE DUREZA DEL ALVÉOLO DENTAL Y BASE DEL HUESO MANDIBULAR POR MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO, RAYOS X Y DUROMETRÍA

TESIS

Que para obtener el Título de CIRUJANA DENTISTA

Presenta

LIZETH REDONDA PINEDA

DIRECTORES DE TESIS: DR. JOSÉ REYES GASGA DRA. MARGARITA VICTORIA GARCÍA GARDUÑO



MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RECONOCIMIENTOS

Dr. José Reyes Gasga

Por la oportunidad y confianza que me brindó para trabajar en su equipo de investigación. Por compartirme parte de sus conocimientos y experiencias. Por su paciencia, asesoramiento, ayuda y consejos durante todo este tiempo. Sobre todo por el gran empeño y dedicación brindados para que este trabajo saliera adelante.

Dra. Margarita V. García Garduño

Por haberme apoyado en la realización de uno de mis sueños. Por creer en mi desde el principio. Por todos los conocimientos que compartió conmigo a lo largo de mi formación profesional. Por haberme brindado la oportunidad de conocer el mundo de la investigación. Y sobre todo por su cariño y su amistad sincera. Por todo el apoyo, paciencia y horas dedicadas a este trabajo. Gracias Dra. Margarita.

Por su ayuda técnica mi más sincero agradecimiento a las siguientes personas:

Pedro Mexia, por su colaboración en la preparación de muestras, por su apoyo y sus consejos. **Roberto Hernández**, por su trabajo **experto y dedicado en la obtención de micrografías de barrido. M.C. Manuel Aguilar**, por su colaboración durante la fase experimental de Rayos X. **Samuel Tehuacanero**, por su colaboración en la digitalización de imágenes. **Dr. Ramiro García**, por su apoyo y críticas constructivas para este trabajo.

Al **Instituto de Física de la UNAM** que me proporcionó todas las facilidades para la elaboración de este trabajo de tesis.

Al proyecto DGAPA-UNAM IN-117906

Dedico esta tesis a:

Mamá

Gracias por ser mi apoyo incondicional, por estar conmigo en los momentos precisos. Por todos tus consejos y por guiarme siempre en la vida. Gracias por todos tus esfuerzos, por todo tu trabajo, tus cuidados y sobre todo gracias por todo tu amor, por enseñarme a crecer y hacer de mi lo que soy. Gracias por todo mamita hermosa.

Papá

Gracias por todo tu amor, tu confianza y tu apoyo. Aunque algunos momentos puedan ser difíciles para nosotros mi amor y mi agradecimiento siempre estarán contigo. Gracias por todos tus esfuerzos, por todo el trabajo, por toda una vida de lucha y sacrificios para que este sueño se hiciera realidad. Gracias por todos los regaños, por enseñarme que en la vida hay que luchar por lo que uno quiere y que no necesitas el reconocimiento de los demás por que al final todos los logros son tuyos. Gracias papá.

Mis hermanas Mimi y Naye

Que siempre han estado conmigo en los momentos más dulces y también en los más dolorosos de mi vida. Gracias por todo su amor, por su amistad, por todas las locuras y por apoyarme siempre.

Jaime

Por que formaste parte de este sueño y eres una persona muy especial en mi vida. Gracias por todos tus consejos, por apoyarme y estar siempre en el momento justo, por todas tus palabras de aliento. Gracias por todo este tiempo, por permitirme compartir momentos buenos y malos. Gracias por todo tu amor incondicional.

ÍNDICE

Pág.
Resumen
i. Antecedentes
ii. Planteamiento del problema8
iii. Objetivos9
iii.1 General
iv. Hipótesis9
V. Justificación10
Capítulo I11
Descripción anatomo-fisiológica del hueso11
Capítulo II La hidroxiapatita y la estructura del hueso
Capítulo III Técnicas de Análisis35
III.1 Microscopía de luz (ML)35
III.2 Microscopía electrónica de barrido (MEB)
III.3 Difracción de Rayos X40
III.4 Análisis Químico por Espectroscopía de
Dispersión de Energía (EDS)43
III.5 Análisis de Dureza44
Capítulo IV Procedimiento experimental45

IV.1 Preparación de muestras para
Microscopía de Luz (corte y pulido)48
IV.2 Preparación de muestras para Microscopía
Electrónica de Barrido (MEB)52
IV.3 Preparación de muestras para Difracción de Rayos X54
IV.4 Preparación de muestras para Análisis Químico
por Espectroscopía de Dispersión de Energía (EDS)55
IV.5 Preparación de muestras para Análisis de Dureza55
Capítulo V Resultados
V.1 Microscopía de Luz (ML)59
V.2 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)67
V.3 Difracción de Rayos X73
V.4 Análisis Químico por Espectroscopía de
Dispersión de Energía (EDS)77
V.5 Dureza83
V.6 Composición Química y Dureza96
Capítulo VI. Discusión
VI.1 Microscopía de Luz y Electrónica de Barrido98
VI.2 Análisis Químico98 VI.3 Dureza98 VI.4 Composición Química y Dureza99
Conclusiones



RESUMEN

El hueso es un tejido mineralizado cuya función primaria es la de soporte de cargas, aunque lleva a cabo funciones como hematopoyesis y reserva de calcio para un gran número de funciones celulares (contracción muscular, conducción nerviosa, entre otros).

El esmalte, la dentina y el hueso están formados principalmente por un fosfato cálcico llamado hidroxiapatita (HA) que tiene una celda unitaria hexagonal cuya formula es $Ca_{10}(PO_4)_6$ (OH)₂ y que difiere en el tamaño del cristal y en la concentración de algunos elementos menores, especialmente carbonato, así como en la organización de los cristales biológicos con respecto a la matriz orgánica.

El hueso humano, en especial el hueso mandibular es una estructura muy compleja y su estudio es muy importante dentro de las ciencias odontológicas como en la odontopediatría, en la cirugía. El tema principal de este trabajo de tesis es la interrelación del hueso mandibular, el alvéolo dental y la función masticatoria, para lo cual ha sido importante la interacción con otras áreas como la física, la química y la biología.

Para éste propósito se ha dividido este trabajo de tesis en 6 capítulos. En el capítulo l se hace una descripción general de la anatomía y fisiología del hueso humano, con el objeto de tener un panorama de la estructura a nivel macroscópico, así como una descripción de su composición química y su clasificación morfológica.

En el capítulo II se presenta una descripción de la estructura de la hidroxiapatita y se detallan algunos aspectos conocidos de ésta en el hueso. En el capítulo III se describen los principios en que se basan las técnicas de análisis que se emplean en este trabajo de tesis. En el capítulo IV, se presenta el procedimiento, desde la obtención de las muestras hasta el procesamiento de las mismas para presentar los resultados que se detallan en el capítulo V.

Finalmente se presenta la discusión de los resultados en el capítulo VI. Las conclusiones de este trabajo, así como la bibliografía consultada se presenta al final.

Los resultados obtenidos con la microscopía de luz y la microscopía electrónicas de barrido son congruentes. El análisis de rayos X realizado indica que las muestras están formadas por hidroxiapatita. En el análisis por EDS se observa una cantidad de elementos que no corresponden a la hidroxiapatita y que parece que tienen un origen en la función de la mandíbula, así como una mayor calcificación en el alvéolo que en la base de la mandíbula.

Los resultados de dureza se relacionan con la función de la mandíbula, se obtuvo mayor dureza en la base de la zona de dientes anteriores que en posteriores y el alvéolo presenta mayor dureza en los dientes posteriores que en los anteriores y no hay una relación simple entre la concentración Ca/P y la dureza.



Antecedentes

Es interesante correlacionar las investigaciones de tejidos realizados para sacar conclusiones correctas.

La Microscopía electrónica y de transmisión se han utilizado para analizar diferentes tipos de hueso como el trabecular del femoral y el de la 5^a. vértebra de ratón (Rubin, M.A., et al, 2004)¹. Ésta investigación se basó en tres niveles: el mesoestructural, microestructural y nanoestructural. A nivel mesoestructural no se encontraron diferencias en la estructura trabecular del femoral, pero en la vértebra se observó una estructura trabecular más delgada. A nivel microestructural, las fibras de colágena mostraron un arreglo ortogonal. En el nivel nanoestructural se estudió la forma y el tamaño de los cristales de apatita, así como sus arreglos con respecto de las fibras de colágena.

La microscopía de luz, electrónica de barrido y la microscopía de fuerza atómica fueron usadas por Chen B, et. al, 2005,² para entender la organización ultraestructural, composición y morfología de la colágena y los minerales de los huesos humanos. El microscopio óptico les fue de gran ayuda para observar que las lagunas del hueso tenían una variación alrededor de los canales de Havers y que existe comunicación entre la laguna y el canal de Havers. Con ayuda del microscopio electrónico de barrido, observaron la matriz del hueso en un arreglo circular alrededor del canal de Havers y los cristales de calcio-fósforo se encontraron en una alineación irregular.

Por otra parte, estudios de difracción de Rayos X realizados por Holden, et al,1995³, muestran que el patrón mineral del hueso comparte similitudes con otras apatitas naturales y minerales. Llevando a estos autores a reportar que el principal componente mineral del hueso era una forma pobremente mineralizada de apatita.

Los estudios químicos realizados por Blumenthal et al., 1981⁴ han demostrado la presencia de fosfato ácido, carbonato, sodio magnesio, potasio, flúor y cloro. Actualmente el modelo más aceptado para la apatita del hueso está basado en una forma calcio-deficiente de hidroxiapatita, con fosfato ácido y/o grupos de carbonato sustituyendo a los iones de fosfato.

En el estudio de dureza de los dientes humanos realizado por Gutiérrez-Salazar y Reyes-Gasga, 2003 ⁵ se mostró que los valores son casi constantes a todo lo largo del esmalte y la dentina del diente. Para el esmalte reportaron un rango de dureza de 270 a 360 VHN y para la dentina de 50 a 60 VHN. Los resultados indicaron que la diferencia de dureza entre el esmalte y la dentina no tienen relación con su contenido de Na, Cl y Mg, pero si con el porcentaje de materia orgánica e inorgánica en éstos.

En este estudio se analizarán las variaciones estructurales y químicas, así como de dureza, entre la base del hueso mandibular y el alvéolo.



Planteamiento del problema

La hidroxiapatita (HA) es el componente mineral principal de huesos y dientes. Utilizando técnicas de difracción de rayos X y análisis químico, se han identificado las fases minerales del esmalte, dentina y hueso y sus componentes de fosfatos de calcio relacionados con la estructura de apatita cuya fórmula es $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.⁶

Las investigaciones acerca de éstos fosfatos cálcicos, componentes principales de la HA y la asociación con algunos elementos traza son de enorme relevancia para la investigación de Biomateriales, los cuales son utilizados en una amplia gama de aplicaciones biomédicas. Este es el caso de la hidroxiapatita cuyo uso dentro de las ciencias odontológicas primordialmente radica en la reparación de defectos en tejidos duros.⁷

El hueso alveolar, cumple una función de amortiguamiento utilizando los componentes del periodonto y las cargas de la masticación, cuando se pierde este soporte por diferentes causas, como por ejemplo la pérdida de dientes, el hueso se ve sujeto a un proceso de reabsorción. Este es el motivo por el cual tiene especial importancia. En caso de pérdida se utiliza apatita sintética para su reemplazo, por lo que es importante su estudio a nivel básico para tratar de contribuir al éxito de las reparaciones.⁸

Por lo tanto, en este estudio nos hemos planteado llevar a cabo un estudio básico del hueso alveolar, analizando estructural y químicamente el alvéolo dental y la base mandibular, así como determinar las variaciones de dureza, con el objetivo de obtener información sobre el tipo de elementos traza contenido en las diferentes regiones del alveolo dental y las posibles variaciones que presente.

Además, de poder comparar simultáneamente el comportamiento de la hidroxiapatita de dos estructuras biológicas diferentes en un mismo hueso.



Objetivos

General:

Conocer los parámetros estructurales, químicos y de dureza del alvéolo dental y de la base del hueso mandibular humano.

Específicos:

- 1. Caracterizar por microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido las propiedades estructurales del hueso mandibular humano del alvéolo y de la base del hueso mandibular.
- 2. Determinar por análisis químico de rayos X característicos (EDS) y difracción de rayos X la composición estructural y química de las 2 estructuras antes mencionadas.
- 3. Relacionar los datos estructurales y químicos con los datos de dureza de las dos porciones seleccionadas y con el funcionamiento dental.

Hipótesis

Las características químicas, estructurales y la distribución de dureza es diferente en el alvéolo y en la base de la mandíbula debido a la función masticatoria y de sostén.

Si se conocen las características estructurales y se determina la composición mineral del hueso mandibular humano, mediante MO y MEB y técnicas como análisis químico (EDS) y difracción de rayos X, nos permitirá obtener una aplicación biomédica exitosa de este material.



Justificación

La hidroxiapatita representa un 70% del contenido mineral del hueso y un 90% del esmalte dental humano. Al ser uno de los materiales utilizados en la amplia gama de aplicaciones biomédicas, como es el caso principalmente de su empleo en la reparación de tejidos duros, representa un aporte de suma importancia al estudio de la ciencia de biomateriales. Se pretende contribuir especialmente al conocimiento sobre 2 porciones del hueso mandibular para desprender información que pueda ser de utilidad para el desarrollo de biomateriales, así como sobre aspectos específicos del comportamiento, estructura y composición de los elementos que éstos tienen y que por ende deben presentar los materiales que los pretendan reemplazar.

Como sabemos, la estructura y propiedades de cualquier material dependen de la naturaleza química y física de sus componentes, por lo que es importante su estudio a nivel básico. En especial la investigación de la hidroxiapatita (HA) del hueso no ha sido abordado del todo a este nivel, debido al pequeño tamaño de los cristales y a su complejo arreglo dentro de la matriz orgánica del esmalte dental y el hueso, además de la gran cantidad de material de sustitución que presenta. Sin embargo, su comportamiento y caracterización incide directamente en el campo de los biomateriales y por ende, en las ciencias de la salud.



Capítulo I. Descripción anatomo-fisiológica del hueso

Es interesante conocer el comportamiento del hueso mandibular humano. Los dientes y el hueso se encuentran en una armonía constante bajo movimientos de presión por lo que es importante considerar la anatomo-fisiología de éstos, ya que nos hará más fácil algunas aplicaciones en la odontología como biomateriales, odontopediatría, cirugía maxilofacial, ortodoncia, etc.

Tejido óseo, composición y estructura

El hueso es un tejido mineralizado cuya función primaria es la de soporte de cargas, aunque lleva a cabo funciones como hematopoyesis y reserva de calcio para un gran número de funciones celulares (contracción muscular, conducción nerviosa, entre otras).

El tejido óseo representa la parte más importante del esqueleto. A pesar de su dureza y resistencia, posee cierta elasticidad. Al igual que el cartílago, es una forma especializada de tejido conectivo denso. Provee al esqueleto de su necesaria fortaleza para funcionar como sitio de inserción y sostén del peso para los músculos, y dar cierta rigidez al organismo para protegerlo de la fuerza de gravedad. Además, el esqueleto tiene funciones importantes de protección, rodeando al cerebro y a la médula espinal, y parte de los órganos del tórax y el abdomen.

La matriz ósea está compuesta por matriz orgánica y un componente inorgánico, la hidroxiapatita. La matriz orgánica está formada por fibras de colágeno inmersas en la sustancia fundamental, que consta de un componente rico en glúcidos compuesto por sialoproteínas y proteoglucanos, principalmente condroitinsulfato y pocas cantidades de ácido hialurónico. El hueso cortical húmedo esta compuesto de un 22% en peso de materia orgánica de la cual del 90 al 96% del peso es colágena; 69% del peso es mineral; y 9% del peso es agua.⁹

COMPONENTES DEL HUESO EN % DE PESO				
COMPONENTES	(% EN PESO)			
1. Inorgánico (apatita)	69			
2. Orgánico	22			
-colágena	(90-96% de la matriz orgánica)			
-sustancia fundamental	(4-10% de la matriz orgánica)			
3. Agua	9			

Tabla que muestra componentes del hueso, tomada de Park, JB, 1992.



La subfase mineral más importante consiste de cristales nanométricos de una apatita de calcio y fosfato, la hidroxiapatita de estructura cristalina hexagonal. Existen otros minerales como el citrato ($C_6H_5O_7^{-4}$), carbonato (CO_3^{-2}), fluoruro (F^-), iones hidroxilo (OH⁻) que pueden producir diferencias en las características microestructurales del hueso. Los cristales de apatita están formados como delgadas agujas, de 20-40nm de longitud, por 1.5-3nm en espesor, embebidos en una matriz de fibras de colágena. Estas fibrillas que contienen el mineral están arregladas en hojas laminares (3-7µm) que corren helicoidalmente con respecto a lo largo del eje cilíndrico del osteón (llamado también canal de Havers). El osteón se compone de entre 4 a 20 lamelas que se arreglan en anillos concéntricos alrededor del canal de Havers. El diámetro de los osteones es típicamente de 150 a 250 µm en diámetro. Entre los osteones los sistemas intersticiales están divididos por la línea cementada.¹⁰ Las substancias metabólicas son transportadas por un sistema de poros de intercomunicación conocidos como canalículos, canales y lagunas de Volkmann, que están conectados con la cavidad medular del hueso. Estos sistemas de intercomunicación están llenos de fluidos corporales.

Clasificación Morfológica del hueso.

El hueso suele clasificarse en cuatro subclases de acuerdo a su contenido de tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos y sustancia ósea en:

- 1) Esponjoso o trabecular
- 2) Compacto o denso

De acuerdo a su desarrollo en:

- 1) Maduro o laminado
- 2) Inmaduro

En los huesos largos, la diáfisis está compuesta por tejido óseo compacto; por el contrario, la epífisis está compuesta por el hueso esponjoso. Fig. I.1

Las superficies articulares están compuestas por cartílago hialino. En el período de crecimiento, la epífisis está separada de la diáfisis por un disco epifisario, donde se produce el crecimiento longitudinal de los huesos. Los huesos están rodeados en su parte externa por periostio y en su interior están rodeados por endostio, el cual recubre los espacios medulares. Los huesos planos del cráneo están compuestos por tejido óseo compacto, separadas por un tejido óseo esponjoso.





Fig. I.1 Esquema de hueso largo humano. En esta figura se puede apreciar de manera esquematizada el hueso esponjoso y compacto. Se muestra la disposición de los canales de Havers. Tomado de Bianchi, Prótesis implantosoportada.

Hueso Esponjoso

El hueso esponjoso está formado por delgadas trabéculas, se localiza en el interior de los huesos del cráneo, vértebras, esternón y pelvis y también al final de los huesos largos. Su estructura es en forma de redes (fig. I.2) similares a una esponja caracterizada por trabéculas, en donde se ubican los osteocitos; y su función es actuar como andamio que provee rigidez y soporte en la mayoría del hueso compacto.

Hueso Compacto o denso

Este se localiza en porciones externas de todos los huesos y ramificaciones de los huesos largos. Poseen una estructura dura y predominan matriz ósea. Aquí se localizan los osteocitos dentro de las lagunas alrededor de los conductos de Havers u osteon.(Fig. I.3). Este hueso provee rigidez y soporte, y forma una capa exterior sólida sobre los huesos, lo cual evita que sean fácilmente rotos o astillados.





Fig. I.2 Hueso esponjoso. Tomado de Bianchi, Prótesis implantosoportada.



Fig. I.3. Sistemas de laminillas óseas o del hueso compacto. Estas laminillas están distribuidas por 4 sistemas que son especialmente manifiestos en la diáfisis de los huesos. Estos sistemas son: laminillas circunferenciales externas, laminillas circunferenciales internas, sistema de los conductos de Havers (osteonas) que están comunicados por conductos de Volkmann y laminillas intersticiales.

Casi todo el hueso inmaduro se forma durante la vida embrionaria y luego es sustituido por hueso maduro, sólo persiste en los alvéolos dentarios, cerca de las suturas craneanas, en el laberinto óseo y cerca de las inserciones de tendones y ligamentos. En estos sitios suele estar mezclado con hueso maduro; también reaparece durante la reparación de fracturas.



En general, posee más células que el maduro y puede tener una disposición de tejido en donde fascículos de las fibras de colágena siguen direcciones variables, contiene más proteoglucanos y glucoproteínas; el dispuesto en haces difiere del tejido porque presenta haces toscos de fibras colágenas que pueden ser paralelas entre sí y estar separadas por osteocitos.

En el hueso maduro, también llamado laminado, la dirección de las fibrillas de colágena en una capa determinada suele presentar un ángulo con las fibrillas de las capas inmediatas adyacentes.

Estudios ultraestructurales de la colágena y los cristales de hidroxiapatita en el hueso, muestran que están íntimamente relacionados. Se ha reportado que existe un efecto entre el grado de mineralización del hueso y sus propiedades mecánicas, en donde se postula que a mayor grado de mineralización se presenta un mayor módulo de elasticidad y fuerza de flexión pero una menor dureza, concluyendo que es la fase orgánica la que provee de dureza y absorción de energía al hueso.¹⁰

Se propone que la matriz ósea es la responsable de las extraordinarias propiedades biomecánicas del hueso. Las fibras colágenas le proporcionan flexibilidad y resistencia a la tensión mientras que las sales minerales le confieren dureza y rigidez y resistencia a la compresión.¹⁰



Embriología Bucomaxilofacial

Formación de los arcos branquiales y sus derivados

La característica externa del área de la cabeza y cuello de un embrión de cuatro semanas, es la serie de arcos branquiales que se desarrollan de las paredes laterales y del piso de la faringe; surgen por la proliferación del mesénquima el cual se condensa formando barras en dirección dorso ventral (Fig.I.8) y separados uno de otro por los surcos branquiales.¹¹

Cada arco branquial consiste de mesénquima derivado del mesodermo lateral y de las crestas neural. Ese mesénquima da lugar a músculos, cartílagos, huesos, y vasos sanguíneos.

Los nervios crecen en los arcos a partir del cerebro. Además forma parte de él, una masa de células ectomesenquimáticas provenientes de la cresta neural (Fig. I.9, fig. 2) Los arcos están revestidos por fuera por ectodermo y por dentro por endodermo.

Entre uno y otro arco branquial, el endodermo de la faringe primitiva sufre una evaginación y da origen a surcos, llamadas *bolsas faríngeas*. En la superficie del embrión, el ectodermo se invagina y da lugar a depresiones llamadas surcos branquiales y que se ubican al mismo nivel que lo hacen las bolsas faríngeas en la superficie de la faringe primitiva.

El primer surco y la primera bolsa contribuyen a formar el conducto auditivo externo. El segundo, tercero y cuarto surcos normalmente se obliteran. La segunda bolsa faríngea origina la amígdala palatina, la tercera y cuarta bolsas conforman las glándulas paratiroides y el timo

El primer arco branquial da origen a dos salientes:

- 1. *El proceso mandibular*, más voluminoso, que contiene el cartílago de Merkel, indica la posición de la futura mandíbula.
- 2. El proceso maxilar, más pequeño, contribuye a la formación del maxilar superior.





Fig. I.8 Arcos branquiales en embrión a principios de la 5ª. Semana. A. Vista superficial. B. Vista frontal. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.



Fig. I.9 Migración de las células de las crestas neurales en las regiones cefálica y cervical. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.



Cuadro I.1 Estructuras cartilaginosas y óseas que derivan de los arcos branquiales. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.

Arcos branguiales	Estructuras	derivadas				
10	Procesos ma	axilares:	Maxilar sup	erior		
	Procesos mandibulares: Maxilar inferior					
	Cartílago de	Merkel:	Porción dorsa	al: martillo y	yunque	
	(tres porcio mandibular	nes)	Porción	intermedia:	ligamento	esfeno-
		Po	orción ventral:	guía de la os	ificación del	1
2°	Maxilar inferior (intramembranosa) Huesos: Estribo (oído medio)					
	Apófisis estiloides. Ligamento estilohioideo Hueso hioides (a partir del cartílago de Reichert)					
30	Cuerno mayo	or del hioi	ides y parte ir	nferior del c	uerpo del h	ioides
4°,5°	Cartílagos Aritenoides, C	la Corniculad	r íngeos: o, Cuneiforme	Tiroides	з, (Cricoides,



Cuadro I.2 Músculos y nervios derivados de los arcos branquiales. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.

ARCOS	NERVIOS	MÚSCULOS		
10	Trigémino, V par	Masticadores, milohioideo, vientre anterior del digástrico, tensor del paladar		
2°	Facial, VII par	Músculos de la expresión facial, estilohioideo, vientre posterior del digástrico		
30	Glosofaríngeo, IX par	Faríngeo superior, estilofaríngeo		
4°,5°	Vago, X par	Faríngeo, laríngeo		

Algunos de estos cartílagos forman estructuras a veces temporales, como el cartílago de Merkel. Este núcleo de cartílago esta ubicado en forma tal que más tarde será el centro del mecanismo de osificación del cuerpo de la mandíbula que se forma a su alrededor. El cuerpo de la mandíbula se desarrolla en forma independiente a partir del tejido conectivo embrionario que rodea al cartílago de Merkel.

De las células de las crestas neurales derivan además los componentes de los tejido conectivos que formarán el tejido dentino-pulpar que tiene su origen en la papila dentaria; los tejidos de sostén del diente: hueso, ligamento y cemento que se forman a partir del saco dentario (ectomesénquima embrionario).

Desarrollo de la cara

La cara se desarrolla partir de cinco primordios:

La prominencia fronto-nasal (engrosamiento), constituye el borde craneal del estomodeo o boca primitiva. Las prominencias maxilares pares del primer arco branquial forman los bordes laterales y las prominencias pares mandibulares del mismo arco, constituyen el borde acudal.

Para constituir el macizo facial los procesos se fusionan entre sí. La fusión se realiza a través de dos mecanismos:

- 1. *La fusión aparente,* es consecuencia de que los procesos o mamelones faciales crecen de modo desigual.
- 2. *La fusión real o mesodermización,* consiste en la unión a través del mesénquima de procesos o mamelones que se han desarrollado previamente de forma independiente.



Entre la quinta y octava semana, las prominencias maxilares aumentan de tamaño y crecen en dirección medial, se dirige hacia arriba y hacia delante extendiéndose por debajo de la región del ojo y, por encima de la cavidad bucal, desplazando las prominencias nasales mediales hacia el plano medial. El surco entre la prominencia nasal lateral y la maxilar, desaparece cuando estas se mezclan.

El labio superior se forma a partir de la mezcla de la prominencia maxilares con las nasales. Las prominencias nasales laterales no forman parte del labio superior, constituyen las alas (lados) de la nariz.

Cuando la prominencias nasales mediales se mezclan, forman un segmento intermaxilar compuesto de tres partes:

1. Un componente labial que forma el filtro del labio superior;

2. Un componente maxilar que tendrá relación con los cuatro dientes incisivos;

3. Un componente palatino que se transforma en el paladar primario.

Las prominencias mandibulares crecen en dirección medial y empiezan a mezclarse una con otra hacia el final de la cuarta semana. Dan forma al labio inferior, barbilla y mandíbula.¹²

Características histológicas del Tejido Óseo

Es importante conocer la histología ósea para entender mejor el comportamiento de la mandíbula especialmente de su base y del hueso alveolar objetos de estudio en esta tesis.

Se encuentran 4 tipos de células: Células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Células osteoprogenitoras: o células madre óseas son células indiferenciadas con carácter de fibroblastos. Durante la formación de los huesos, estas células sufren división y diferenciación a células formadoras de hueso (osteoblastos); mientras que los monocitos o macrófagos o "preosteoclastos" dan origen a osteoclastos. Está es una célula en reposo capaz de transformarse en un osteoblasto y secretar matriz ósea. Se encuentran en las superficies externas e internas de los huesos (células periósticas y células endósticas).

Son capaces de dividirse y proliferar, y tiene la capacidad de diferenciarse a tres tipos celulares, además de los osteoblastos; Estas son: adipositos, condroblastos y fibroblastos (se desconoce el origen exacto de estas células). En el hueso compacto, los osteocitos se encuentran ubicados en lagunas de la matriz ósea; éstos, tienen numerosas prolongaciones que se extienden para nutrirse hacia los canales ricos en vasos del tejido óseo. La matriz ósea forma unas láminas dispuestas en forma



concéntrica rodeando los canales o conductos de Havers, de este modo se forman los sistemas de Havers u osteonas.

Otro sistema de canales conductores de vasos son los conductos de Volkmann, los cuales comunican los conductos de Havers con las superficies externa e interna del hueso. A diferencia de los conductos de Havers, no están rodeados por las láminas concéntricas.

El tejido esponjoso también está compuesto por láminas, pero generalmente no se encuentran rodeando los sistemas de Havers. El periostio se compone, en el período de crecimiento del hueso, de una capa interna de tejido conectivo laxo vascularizado, donde se encuentran los osteoblastos. Luego, los osteoblastos se transforman en células osteoprogenitoras. En el caso de una fractura, estas células se transforman nuevamente en osteoblastos y producen hueso nuevo durante la reparación de la fractura. El endostio es más fino y se compone de una sola capa de células planas.

Osteoblasto

Célula diferenciada formadora de hueso que secreta la matriz ósea. Secreta el colágeno y la sustancia fundamental que constituyen el hueso inicial no mineralizado u **osteoide**. Responsable de la calcificación de la matriz mediante de la secreción de pequeñas vesículas matriciales las cuales tienen gran cantidad de fosfatasa alcalina.¹²(Fig. I.4)



Fig. I.4 Osteoblasto visto por microscopia electrónica. Tomado de Bianchi, Prótesis implantosoportada.



Osteocito

El osteocito (Fig. I.5) es la célula ósea madura, de forma aplanada, está rodeado por la matriz ósea que secretó antes como osteoblasto. El osteocito es un osteoblasto diferenciado. Son los responsables del mantenimiento la matriz ósea. (Fig. I.6). Poseen la capacidad de sintetizar y resorber la matriz, al menos en forma limitada.¹²



Fig. I.5 Osteocitos en los que se observan las finas prolongaciones del cuerpo celular. Tomado de Bianchi, Prótesis implantosoportada.



Fig. I.6. Osteocito en el interior de una laguna. La matriz ósea mineralizada es de color negro. (5700x). Tomado de Bianchi, Prótesis implantosoportada.



Osteoclasto

Célula multinucleada de gran tamaño cuya función es la resorción ósea (Fig.I.7). Cuando el osteoclasto está en actividad, descansa directamente sobre la superficie ósea donde se producirá la resorción. Como consecuencia de su actividad, inmediatamente por debajo del osteoclasto se forma una excavación poco profunda llamada laguna de resorción.

Los osteoclastos reabsorben las trabéculas, van formando tejido óseo a manera de laminillas y se dispone la médula ósea definitiva dada la menor o mayor cantidad de laminillas.¹³



Fig. I.7 Esquema de los mecanismos implicados en la reabsorción ósea por parte de los osteoclastos. Tomado de Bianchi, Prótesis implantosoportada.

Evolución Celular

Es interesante revisar la forma de evolución celular para entender la dinámica ósea. Algunos osteoblastos y fibrillas dan origen al depósito de nuevas laminillas de oseina (sustancia cementante amorfa, de por sí bastante rígida, secretada por osteoblastos) y a la vez se van cargando de sales de calcio. El tejido conjuntivo continua la multiplicación de los fibroblastos y sigue formando oseina, y el pseudo epitelio (serie de osteoblastos continua) continúa retrocediendo. Así, capa a capa, va formándose el tejido óseo.¹¹ Las laminillas se forman a partir de un tejido que posee sustancia fundamental, fibrillas, células conjuntivas. Durante esta formación surgen dos etapas que son la aparición de sustancia cementante (oseina) y la impregnación con sales cálcicas. Luego se genera la primera laminilla de hueso sin calcificar, luego se forma la segunda laminilla y se calcifica la primera, y así sucesivamente.¹³



Formación de los huesos

La etapa inicial de la formación de hueso es la secreción de colágena y sustancia fundamental por los osteoblastos. La colágena se polimeriza dando lugar a fibras colágenas, el tejido resultante se vuelve osteoide. Este es un material que se parece al cartílago pero difiere de éste en que permite la precipitación en su interior de sales de calcio. Poco después de formado el osteoide se empiezan a precipitar sales de calcio en las superficies de las fibras de colágena. Estos precipitados aparecen periódicamente formando nidos diminutos que se multiplican rápidamente y crecen durante un período de días y semanas hasta llegar al producto terminado, la hidroxiapatita.¹⁰

Las sales iniciales de calcio que se depositan no son cristales de HA sino compuestos amorfos, como una posible mezcla de CaHPO₄, $2H_2O$, $Ca_3(PO_4)^2$, $3H_2O$ y otros. Luego por un proceso de sustitución y adición de átomos, éstas sales se pueden extraer con rapidez cuando se necesita más calcio en el líquido extracelular.

La formación de los huesos involucra dos procesos muy complejos que tienen lugar casi en forma simultánea, la *histogénesis del tejido óseo,* y el desarrollo del hueso como órgano por un mecanismo de *osificación.*

La histogénesis del tejido óseo se inicia a partir de células osteoprogenitoras, derivadas de células mesenquimáticas, que al ser estimuladas por distintos factores, entre ellos la proteína morfogénica ósea (BMP), se transforman en osteoblastos. Estas células comienzan a sintetizar la matriz ósea que conformará las trábeculas osteoides en las que luego se depositarán las sales minerales óseas. El mecanismo de osificación se realiza por sustitución o remoción del tejido conectivo por otro nuevo tejido, el tejido óseo que conduce a la formación de los huesos.

Existen dos tipos de osificación: osificación endocondral y osificación intramembranosa, lo cual se refiere al sitio o ambiente en los que ocurre la osificación. Endocondral significa "en el cartílago", e intramembranosa "dentro de membrana".

a) Intramembranosa:

En la osificación intramembranosa, el tejido óseo se forma con base a tejido mesenquimatoso por células mesenquimáticas. Estas células se empiezan a dividir por mitosis y en la 3ra. semana se condensan en un tejido conectivo vascularizado.

Algunas se diferencian en osteoblastos y empiezan a sintetizar matriz y a formar hueso. El primer lugar donde se empieza la osificación se denomina centro de osificación primario. La matriz recientemente formada, no calcificada, se denomina osteoide.



En las zonas periféricas del hueso el tejido óseo se dispone como tejido compacto formando las tablas externa e interna. En la zona intermedia el tejido óseo es de variedad esponjosa y se denomina dipliode o aerolar. Esta osificación es típica de los huesos planos. Ejem: bóveda o calota craneal y maxilar superior. (Fig. I.10).

b)Endocondral o molde cartilaginoso:

El molde de cartílago hialino es el que guía la formación ósea por remoción del cartílago, que experimenta numerosos cambios histológicos previos: proliferación e hipertrofia celular, calcificación de la matriz cartilaginosa, erosión (invasión vascular), formación de tejido osteoide y posterior mineralización.(Fig. I.11).

Ejemplo: huesos de la base del cráneo: condrocráneo o rama del maxilar inferior.



Fig. I.10 Osificación intramembranosa



Fig. I.11 Osificación endocondral etapa inicial y etapa avanzada



El tipo de osificación está estrechamente relacionado con la futura función del hueso. En las zonas de crecimiento expuestas a tensiones, el mecanismo de osificación es intramembranoso. El hueso tolera mejor la tensión, crece sólo por aposición. Donde existen presiones la osificación es endocondral. El cartílago por ser rígido y flexible soporta mejor la presión y el crecimiento es de tipo aposicional e intersticial.¹¹

Osificación del hueso mandibular

El hueso mandibular tiene un mecanismo de osificación yuxtaparacondral en el que el cartílago de Merkel (cartílago primario), sirve como guía o sostén pero no participa. La osificación se efectúa en forma de una estructura paralela y ubicada al lado del cartílago. El inicio de la formación del tejido óseo se produce a las seis o siete semanas de gestación aproximadamente. Comienza en la vecindad del ángulo formado por las ramas del nervio mentoniano y del nervio incisivo, al separarse del nervio dentario inferior (Fig. I.12 y I.13).

La osificación se inicia como un anillo óseo alrededor del nervio mentoniano y, luego las trabéculas se extienden hacia atrás y hacia delante, en relación externa al cartílago de Merkel; la porción ventral de éste es la que sirve de guía al proceso de osificación intramembranoso del cuerpo del maxilar. El sector distal del cartílago es el encargado de formar el martillo, el yunque y su porción intermedia el ligamento esfeno-maxilar. El resto del cartílago involuciona, salvo una pequeña parte a la altura de la zona incisal, que conforma el cartílago sinfisal secundario.

El hueso embrionario del cuerpo del maxilar, simula un canal abierto hacia arriba, donde se alojan el paquete vasculo-nervioso y los gérmenes dentarios en desarrollo. Al avanzar la osificación la porción del cartílago de Merkel que guía este mecanismo, involuciona excepto a nivel de la sínfisis mentoniana. La formación del cuerpo de la mandíbula finaliza en la región donde el paquete vasculo-nervioso se desvía hacia arriba.

A las doce semanas de gestación aparecen en el mesénquima otros centros de cartílago independientes del cartílago de Merkel, y que juegan un papel importante en la osificación endocondral de la rama del maxilar.

La osificación es *mixta* porque además de ser una osificación intramembranosa intervienen los cartílagos secundarios. En el cuerpo es intramembranosa y en la rama es endocondral. Existen tres centros cartilaginosos secundarios: el coronoideo, el incisivo (sinfisal o mentoniano) y el condíleo.





Fig. I.12 Osificación yuxtaparacodral del maxilar inferior. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.



Fig. I.13 Paquete vasculonervioso del nervio dentario inferior del cuerpo de la mandíbula en osificación. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.

En los sitios donde aparecen los cartílagos secundarios, será el sitio de las inserciones de los músculos masticadores. Esta interrelación "músculo – nervio y tejido óseo" es considerada como una función inductora (matriz funcional), donde cada una de estas estructuras estimula el desarrollo de sus tejidos adyacentes. Se ha demostrado que el tejido óseo se desarrolla de manera amorfa y para que adquiera su arquitectura se necesita la presencia y la implantación de las fibras musculares en él.¹¹



Se sugiere además, que la lámina dental junto con el cartílago de Merkel, coordinarían el proceso de osificación del cuerpo mandibular; el mesénquima es el que induce la morfogénesis dentaria y los tejidos anexos. Los gérmenes dentarios estimulan el desarrollo de las apófisis alveolares óseas (procesos alveolares), que luego se incorporan al cuerpo del maxilar (Fig. I.13).

Durante la vida fetal las dos mitades del maxilar están unidas por una sínfisis fibro cartilaginosa, llamada sincondrosis, la cual, en la vida postnatal es reemplazada gradualmente por hueso.

El crecimiento de la mandíbula hacia abajo y adelante se desarrolla por el cartílago condilar, en sentido vertical por la formación de los rebordes o apófisis alveolares. En sentido anteroposterior el crecimiento se produce por aposición en el borde posterior de la rama y por reabsorción en el borde anterior de la misma.

El tejido óseo de la mandíbula es sumamente activo, presenta un metabolismo muy intenso que le permite realizar aproximadamente 5 recambios en todos sus componentes orgánico-minerales a lo largo de la vida. En la niñez y en la adolescencia el remodelado de crecimiento es muy acelerado, lo que involucra la formación de un hueso muy vascularizado debido a las rápidas velocidades en su depósito, posteriormente es reemplazado por otro menos vascularizado o maduro.¹¹

Estas modificaciones implican cambios en la arquitectura de las corticales y las trabéculas del hueso esponjoso, para adaptarse a los requerimientos funcionales por las presiones masticatorias. Por ejemplo, en la zona de los molares inferiores las trabéculas óseas se orientan horizontalmente, mientras que a nivel de los caninos, se disponen verticalmente.

Formación del hueso alveolar

El tema de esta tesis incluye al hueso alveolar por lo que es muy importante conocer su formación.

Al finalizar la octava semana del período embrionario tanto el maxilar inferior como el superior contienen los gérmenes dentarios en desarrollo, los cuáles estimulan la formación de los alvéolos a medida que estos pasan de la etapa pre-eruptiva a la eruptiva pre-funcional. Con la formación radicular se conforman los tabiques óseos y de esta manera se incorporan gradualmente los alvéolos a los cuerpos óseos de los maxilares superior e inferior respectivamente.

El hueso alveolar que se forma alrededor del germen dentario crece y se desarrolla con la erupción. Durante su formación crece alrededor del diente y luego se une a la porción basal de los maxilares. La remodelación por el crecimiento en el hueso alveolar está íntimamente asociada con el crecimiento general de los huesos y con las funciones de los tejidos blandos que lo rodea. Con la edad se produce un



aumento en la densidad de las trabéculas por osteoesclerosis, pero también se puede producir una disminución en la densidad de las trabéculas por osteoporosis.

Mandíbula

Es importante de igual manera realizar una descripción de la mandíbula así como del hueso alveolar. La mandíbula es una estructura muy compleja en términos biomecánico, constituida por dos articulaciones ligadas a los poderosos músculos elevadores masticatorios en dos ramas ampliamente separadas. Los músculos depresores están ligados principalmente a la parte anterior del cuerpo mandibular.

En el estado dentado las fuerzas son transmitidas de los dientes a través del hueso alveolar al hueso basal, el que sufre la carga pénsil, de torsión y de carga. La pérdida de los dientes puede resultar en un proceso de reabsorción por desuso del hueso alveolar pero la mandíbula está aún sujeta a estas cargas.¹⁴

La mandíbula está compuesta principalmente por hueso cortical, en tanto que la masa del hueso trabecular es pequeña. Las raíces de los dientes ocupan la mayor parte del proceso alveolar y el canal mandibular pasa a través del hueso trabecular en las regiones molares y premolares del cuerpo mandibular, posterior al foramen mentoniano.

Hueso alveolar

El hueso alveolar es la porción de huesos basales del maxilar y la mandíbula que forman la cavidad ósea en que se aloja y sostiene el diente. No hay un límite preciso entre el hueso alveolar y el resto de hueso de la mandíbula (Fig. I.14).

Sin embargo, el hueso alveolar en sí, consta de dos regiones distintas:

- 1. Una capa externa de hueso compacto, la lámina dura;
- 2. Una zona interna de hueso esponjoso, cuya cantidad varía en diferentes lugares.

Se desarrolla al mismo tiempo con la formación de los dientes y adquiere su arquitectura definitiva cuando éstos erupcionan, adaptándose con ellos a los diversos requerimientos funcionales que experimentan.





Fig. I.14 Alvéolo dental, corte a través del maxilar inferior. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.

En cada alveolo podemos distinguir dos tipos de paredes o bordes alveolares:

a) Las tablas alveolares libres (vestibular, palatina o lingual), cada una de las cuales presenta una cara alveolar y otra libre, como puede observarse en un corte vestibulolingual. (Fig. I.15)

b) **Los tabiques alveolares**, cuando separan los alvéolos de dos dientes vecinos se denominan *tabiques interdentarios*, si separan dos divertículos de un mismo alvéolo se les llama *tabiques interradiculares*.

La lámina dura muestra numerosas perforaciones para dar paso a los vasos sanguíneos, que van de la médula ósea al ligamento periodontal. Por esta razón, a la lámina dura se le llama cribiforme. También se puede encontrar un tercer tipo de hueso en relación con el hueso alveolar. Este es el hueso entretejido (dispuesto en haces), que reviste los alvéolos después de que los dientes han sido sometidos a una presión. Este hueso no-laminar se encuentra donde las fibras principales del ligamento periodontal se anclan en forma de fibras de Sharpey.¹¹





Fig. I.15 Alvéolos dentarios A. Vistos desde arriba, B. En corte vestibulolingual. C. En corte mesiodistal. Tomado de Gómez de Ferraris, 2003.

La función primordial del hueso alveolar es proporcionar a los alvéolos para que el diente se aloje y se fije a ellos por medio de las fibras periodontales. Constituye una articulación (alveolodentaria), que permite resistir las fuerzas que se generan por el contacto intermitente de los elementos dentarios durante la masticación, fonación y deglución. También protege a los vasos y nervios que corren por el hueso para el ligamento periodontal.¹¹

Ligamento periodontal

Resulta interesante mencionar el ligamento periodontal ya que es un tejido que existe entre el hueso alveolar y el diente. El ligamento periodontal es una delgada capa de tejido conectivo fibroso, por medio de sus fibras une el elemento dentario al hueso alveolar que lo aloja. Sus fibras principales se insertan por un lado en el cemento y por el otro en la placa cribosa del hueso alveolar.

Sus funciones principales son mantener al diente suspendido en su alvéolo, soportar y resistir las fuerzas empleadas durante la masticación y actuar como receptor sensorial propioceptivo, función necesaria para lograr el control posicional de la mandíbula y una correcta oclusión.

El ancho del ligamento periodontal varía notablemente de un individuo a otro, entre los distintos elementos dentarios, y aún en las diferentes zonas de un mismo diente. En general, su espesor oscila entre 0.10 y0.38mm. Éste disminuye con la edad, en individuos jóvenes tiene un ancho promedio de 0.20mm y de 0.15mm en personas mayores de cincuenta años; igualmente aumenta con la función masticatoria.



Capítulo II. Estructura de la Hidroxiapatita.

El tejido mineralizado tanto de hueso como de diente es un fosfato cálcico llamado hidroxiapatita (HA). La hidroxiapatita tiene una celda unitaria hexagonal cuya fórmula es $Ca_{10}(PO_4)_6$ (OH)₂. Cristalográficamente tiene un grupo espacial P6₃/m (Fig. II.1) que se encuentran inmersos en la matriz orgánica. La HA en estado natural no es completamente pura ya que permite con facilidad el acomodo de impurezas en su celda unitaria.¹⁵

La HA es químicamente estable a temperatura de 37°C y pH de 7. A bajas temperaturas solo la hidroxiapatita y el fosfato de calcio dibásico pueden encontrarse en solución acuosa. La solubilidad de la HA se incrementa al disminuir el pH. La deshidratación de la HA cuando se somete a tratamientos térmicos en ausencia de agua puede llevar a la conversión de esta fase a fosfato tricálcico.¹⁶

El esmalte, la dentina y el hueso están formados principalmente por hidroxiapatita la que difiere en el contenido de agua, cantidad y contenido de componentes orgánicos, difiriendo en el tamaño del cristal y en la concentración de algunos elementos menores, especialmente carbonato y morfología y orientación así como la organización de los cristales biológicos con respecto a la matriz orgánica.

El tamaño de los cristales del esmalte (HA) comparando la dentina y el hueso puede atribuirse parcialmente a la mayor concentración de CO_3 y Mg en dentina y hueso basado en su efecto sinérgico sobre apatitas sintéticas.² La unidad más pequeña del cristal da la hidroxiapatita de calcio, HA, contiene 10 Ca, 6 PO₄ y 2 grupos OH. El arreglo atómico de esta unidad muestra una organización espacial de los átomos de Ca, tetraedros PO₄ y grupos OH con respecto a sí mismos.

Los iones OH se localizan en el centro de la celda unidad y son rodeados por dos series de átomos de Ca (II) arreglados en un patrón triangular a nivel $z = \frac{1}{4} y \frac{3}{4}$; por dos series de tetraedros de PO₄ también arreglados de manera triangular a niveles z = $\frac{1}{4} y \frac{3}{4}$ por un arreglo hexagonal de los átomos de calcio a distancia. (Fig. II.2).

Los 10 átomos de Ca son descritos como Ca (I) y Ca (II) de acuerdo a su entorno; cuatro átomos de Ca(I) ocupan posiciones a los niveles z = 0 y $z = \frac{1}{2}$, seis átomos de Ca (II) ocupan posiciones a niveles $x = \frac{1}{4}$ y $x = \frac{3}{4}$ en grupos de tres. Los grupos OH mostrados como de una sola unidad en este arreglo O_H_O_H paralelo al eje c.





Fig. II.1 Celda unitaria de la hidroxiapatita.



Fig. II.2. Esquema de la posición de los átomos de Ca, P y OH en la celda unidad de la hidroxiapatita. Tomado de Friedman, SR, 2002.



Las dimensiones de la celda unidad de la apatita se describen por ejes a, b, y c (0.9422 y 0.6880 nm respectivamente). La unidad de celda se repite a sí misma en tres dimensiones para formar el cristal de apatita.⁶ La no estequiometría y la asociación con algunos elementos traza de las apatitas biológicas es de enorme relevancia para la investigación de biomateriales, especialmente los que son utilizados en una amplia gama de aplicaciones biomédicas como es el caso de la HA.



III. Técnicas de análisis.

Microscopía de Luz.

El microscopio de luz constituye una herramienta básica para esta investigación. La invención del microscopio de luz fue obra de un fabricante de anteojos, el holandés Zacharias Janssen de Middleburg. Éste consiste en una serie de lentes y en una fuente de iluminación. Cuenta con un sistema que localiza la luz, es decir, recoge la luz proveniente de cada punto del objeto y la usa para formar una imagen. El sistema de lentes que esta cerca del objeto recibe el nombre de objetivo y el que se encuentra en donde se coloca el observador se llama ocular. El objetivo forma una imagen real, invertida y aumentada del objeto. Los rayos que divergen de cada punto de esta imagen emergerán del ocular paralelos. El ocular aumenta la imagen intermedia aún más.



Fig. III.1 Trayectorias seguidas por los rayos de luz en un microscopio óptico. Tomado de Yacaman, 1998.


Las lentes son de vidrio y tiene una distancia focal fija. El enfoque y la amplificación se realizan cambiando la posición del objetivo por medio del revólver.

Aunque los microscopios de luz tienen una organización estructural similar varían de acuerdo al sistema de iluminación y a la disposición del sistema óptico. De acuerdo con esto tenemos microscopios ópticos de campo claro, de contraste de fases, de luz polarizada, de campo oscuro, etc. El sistema de mayor uso es el de campo claro, en el cual, la imagen se forma a partir de muestras coloreadas o que presentan contraste o color natural. La luz es transmitida o absorbida por la muestra.¹⁷



Fig. III.2 Partes del microscopio de luz. Tomado de Yacaman, 1998.



Microscopía electrónica de barrido (MEB).

El microscopio electrónico de barrido constituye una herramienta más para el desarrollo de esta investigación y complementa al microscopio de luz, ya que nos permite observar a mayor detalle las estructuras.

El concepto físico del microscopio electrónico es idéntico al del microscopio óptico; pero en vez de utilizar luz, el microscopio electrónico utiliza electrones. En el primero, la luz puede ser enfocada a través de lentes de vidrio, mientras que en el segundo, los electrones son enfocados por medio de lentes electromagnéticas.

Un lente electromagnético es básicamente una bobina. La corriente que pasa a través de las bobinas es relativamente baja, pero el campo magnético que se produce se concentra debido al hierro dulce que forma el cuerpo de éstas.

La fuente de iluminación la conforma el cañón de electrones que consiste en un filamento en forma de V. A través de este filamento fluye una corriente eléctrica que lo calienta y por efecto de la emisión termiónica se provoca un desprendimiento de electrones.

De la forma y material de este filamento depende la resolución del microscopio. Los filamentos de Tungsteno son los más usuales y requieren un vacío de 10⁻⁶ Torr. El filamento de hexaboruro de lantano (LaB₆) es un compuesto en el que los átomos de La se colocan en la red de B, y cuando el material se calienta los átomos de La se difunden hacia la superficie. Este filamento trabaja con un vacío de 10⁻⁷ Torr. Los filamentos de emisión de campo son de tungsteno y presentan una forma piramidal. En éstos el campo eléctrico en la punta es muy intenso y genera un haz altamente coherente, éste requiere de un vacío de 10⁻¹² Torr. Entonces si aplica un voltaje elevado entre el filamento, su campo catódico y el ánodo los electrones son atraídos y acelerados hacia el ánodo cargado positivamente. Algunos de los electrones viajan a gran velocidad, pasan a través del orificio del ánodo y entran dentro de la columna del microscopio electrónico.





Fig. III.3. Representación esquemática de un microscopio electrónico de barrido. Tomado de Yacaman, 1998.

El microscopio electrónico de barrido es un instrumento diseñado para estudiar, en alta resolución, la superficie de los sólidos. Posee una resolución y profundidad de foco mayores que el microscopio de luz y utiliza un mayor número de señales que provienen de la interacción de los electrones con los sólidos y que permiten obtener mayor información sobre la orientación cristalina, la composición química, la estructura magnética o el potencial eléctrico del material en observación.

El funcionamiento del MEB esta basado en el hecho de barrer la muestra con un haz electrónico de sección transversal pequeña y de alta energía y generar una imagen punto a punto de ella. La imagen en la pantalla de televisión del MEB es un mapa de las intensidades de los electrones emitidos por la superficie de la muestra de la misma manera en que la imagen del microscopio óptico es un mapa de la luz reflejada de la superficie de la muestra en observación.¹⁷





Fig. III.4. Modo de formación de la imagen de un MEB. Tomado de Yacaman, 1998.

Cuando el haz de electrones interacciona con la muestra se producen varios tipos de señales, las que nos permiten caracterizarla estructural y químicamente. Estas señales son electrones retrodispersados, secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y Rayos X. Los electrones retrodispersados y secundarios son la fuente de información para la microscopía electrónica de barrido, nos dan información sobre la muestra, permitiendo de este modo obtener una imagen topográfica de ella.



Fig. III.5. Tipos de señales que se producen durante la interacción del haz electrónico con la muestra. Tomado de Yacaman, 1998.



Rayos X

Wilhelm Conrad Roetgen experimentaba con tubos al vacío y en 1895 produjo con uno de estos tubos un rayo invisible, capaz de penetrar substancias opacas a la luz al cuál llamó "rayos x".

Los rayos X pertenecen a un grupo de radiaciones electromagnéticas que no poseen partículas o masa, son energía pura. Su región en el espectro electromagnético está entre 0.05 y 125 KeV y se origina siempre que una partícula de muy pequeña masa y dotada de suficiente energía cinética, choca con la materia. Parte de esta energía se invierte en la producción de rayos X a causa de la perturbación que la colisión produce en el estado energético de los átomos del material bombardeado.

El átomo esta formado de electrones que se mueven en diferentes niveles de energía alrededor del núcleo. Estos niveles pueden aceptar una cantidad determinada de electrones y se denominan con las literales K (acepta 2e⁻), L (acepta 8e⁻), N y O que estarán también ocupados en los átomos de los elementos más pesados. La energía de estos niveles decrece conforme aumenta la distancia al núcleo.

Se dice que un átomo está en su estado base cuando su energía total es mínima. Cuando los electrones son movidos a niveles de energía inferiores o son sacados del átomo, dejando vacancias, se dice que el átomo esta "excitado". Para excitar un átomo el haz de electrones debe tener una energía más alta que la energía crítica para sacar un electrón de un nivel dado. A esta energía crítica se le conoce también como borde de absorción. De esta manera, si el haz electrónico tiene la energía suficiente para excitar los electrones K de un átomo es también capaz de excitar los electrones L y M. Por lo tanto, las energías de los rayos X característicos son clasificadas de acuerdo con el tipo de transición que las provoca. Es decir, los rayos X "K" resultan de una transición de un electrón de otro nivel hacia el nivel K. Los X "L" resultan de la transición de electrones de otros niveles al nivel L y así sucesivamente.(Fig. III.6)

También sabemos que existen subniveles de energía dentro de los niveles energéticos, debido a ligeras diferencias de energía entre los electrones de estos: el nivel L tiene 3 subniveles, el M tiene 5 subniveles, el N tiene 7 subniveles. Ya que cada subnivel tiene diferente energía, los rayos X relacionados con electrones de estos subniveles varían ligeramente. Estas variaciones son clasificadas en K α , k β , y K γ ; L α ,L β , L γ , L λ y así sucesivamente.¹⁷

Así pues, los rayos X emitidos de esta forma dependen de cada elemento, por lo cual podemos identificar la composición química de una muestra dada, a partir de la energía de dispersión de rayos X del mismo.¹⁷





Fig. III.6 Emisión de rayos X característicos. A) átomo de fósforo en un estado de mínima energía, B) es átomo es bombardeado con un haz de electrones provocándose una colisión de electrones, C) un electrón e⁻² del nivel K del fósforo es expulsado fuera del átomo, creando una vacancia y dejando excitado al átomo. D) Un electrón del nivel L ocupa la vacancia y genera radiación X. Tomado de Yacaman, 1998.



Análisis cuantitativo con Rayos X

El análisis de difracción de rayos X nos dará información acerca de las características estructurales de la muestra como son: parámetro de red, celda unitaria y grupo cristalográfico.

El procedimiento normal para hacer el análisis de una muestra por difracción de rayos X es comparar la razón de conteo de un elemento dado, primero a partir de un área de la muestra y luego de un espectro estándar del elemento puro o de una aleación de composición conocida. La razón de las intensidades, K, de los elementos de la concentración desconocida con las del estándar es la media experimental básica.

Cualquier especie cristalina produce siempre un diagrama de difracción característico, y si la muestra se encuentra constituida por una mezcla de diferentes especies, el diagrama correspondiente manifestará la suma de los efectos de difracción individuales de cada una de ellas. Cada compuesto cristalino tiene un diagrama de Rayos X. Estos diagramas se encuentran coleccionados en las fichas y libros del "Joint Comité on Powder Diffraction Standards".¹⁷

La característica más importante de este método de análisis es que la información que proporciona es exclusiva a la fase cristalina, íntegramente considerada, no en términos de los elementos que la constituyen, a diferencia del análisis químico que sólo proporciona información sobre los elementos constitutivos de la muestra pero no de las fases en las que se presentan.¹⁸

En la técnica de polvos cristalinos, la muestra es un polvo tamizado para que las probabilidades de encontrar a cualquier plano en cualquier orientación aparezca en toda la muestra de manera que la información que se obtiene entre 0 y 80° en 2 θ provenga de todas las orientaciones posibles que los polvos ofrecen.



Fig. III.7 Difractograma de Rayos X de hidroxiapatita.



Análisis químico por EDS

El análisis químico por EDS nos dará información acerca de la composición química de las muestras. Existen cuatro técnicas para realizar el análisis químico en el rango de micras (microanálisis) de una muestra en estudio, tanto cualitativo como cuantitativo: la microsonda electrónica, espectroscopia de electrones Auger, espectroscopia de emisión iónica y la microsonda láser.

La microsonda electrónica mide la intensidad y la longitud de onda de la radiación característica de rayos X de un elemento, al ser excitado por un haz de electrones. En el diseño de la microsonda electrónica se usan dos tipos de espectrómetros: el espectrómetro de dispersión de energía **(EDS)** y el espectrómetro de dispersión de longitud de onda (WDS).

Para excitar un átomo el haz electrónico debe tener una energía más alta que la energía crítica para sacar un electrón de un nivel dado. Por lo tanto, si el haz electrónico tiene la energía suficiente para excitar a los electrones de la capa K de un átomo es también capaz de excitar a los electrones de las capas L y M.¹⁷

El procedimiento normal para hacer el microanálisis de una muestra es comparar la razón de conteo de un elemento dado, primero a partir de un área de la muestra y luego comparar con un espectro standard del elemento puro. La razón de las intensidades, K, de los elementos de la concentración desconocida con las del standard es la medida experimental básica.

En el **EDS** se usa un detector de estado sólido colocado cerca de la muestra, el cual, al momento de su interacción con los Rayos X, produce un pulso eléctrico que es proporcional a la energía del Rayo X característico. Conociendo el número de pulsos y su intensidad, puede medirse la energía de los Rayos X y la composición química de la muestra. Los dispersores de longitud de onda analizan la muestra, difractando la radiación característica de ésta mediante un cristal adecuado. Con **EDS** se puede obtener rápidamente un espectro, buenos resultados con bajas corrientes y el análisis de superficies rugosas, es fácilmente adaptable a cualquier microscopio, ya sea de barrido o de transmisión.¹⁷

UNAM BOH

Análisis de Dureza

La dureza está definida como la resistencia de un material a la penetración de su superficie. Como podría esperarse, la dureza y la resistencia de un material están íntimamente relacionados.

El índice de Brinell (BHN) es un índice de dureza calculado a partir del área de penetración de un penetrador grande. La muesca se hace con una esfera de acero muy duro o de carburo de tungsteno bajo una carga estándar. La dureza Rockwell, otro de los índices comúnmente usados, está relacionada con el BHN, pero se mide por la profundidad de penetración de un pequeño penetrador estándar. Otra escala utilizada es la Vickers, ésta utiliza una pequeña pirámide de diamante y una carga muy ligera. El tamaño de la penetración se mide en un microscopio.¹⁶

La dureza Vickers se puede definir como el valor calculado de la fórmula obtenida a partir de la prueba de una carga en el tiempo, cuando la superficie de la prueba es indentada y en el área de la superficie obtenida se marcan dos diagonales al usar un indentador de diamante en forma de pirámide cuadrangular, con una base cuadrada en donde el ángulo entre las caras opuestas es de 136°.

La escala de Vickers se obtiene a partir de la medición de las diagonales y para obtenerla se requiere del uso de la siguiente fórmula:

HV=
$$0.102 \frac{F}{S} = 0.102 \frac{2Fsin\frac{\theta}{2}}{d^2} = 0.1891 \frac{F}{d^2}$$

Donde:

HV: Dureza Vickers

- F: Carga de la prueba (N)
- S: Área de la superficie de indentación (mm²)
- d: Valor promedio de las diagonales de la indentación (mm)
- θ: Ángulo entre las caras opuestas al vértice del indentador de diamante



IV. Procedimiento experimental.

En este capitulo se describirá detalladamente la forma de preparar las muestras según la s técnicas usadas, tal como son la microscopía electrónica de barrido, análisis químico por rayos X y la pruebas de microdureza. Los equipos que se utilizaron se encuentran en el Instituto de Física de la UNAM y en el Laboratorio de Materiales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología.

MATERIAL Y MÉTODO

Obtención de las muestras:

Para la realización de este estudio se procesó una mandíbula humana (Fig.IV.1) con su dentición íntegra, donada por el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina UNAM. Esta mandíbula fue caracterizada antropológicamente como perteneciente a un individuo de sexo masculino de entre 18 y 22 años de edad; vista tanto de frente (A) y de perfil ³/₄ (B) en su integridad anatómica. Las flechas indican las estructuras que se analizaron en este trabajo de tesis: cavidad alveolar de dientes anteriores, cavidad alveolar de dientes posteriores y base de la mandíbula. Estas estructuras se muestran también vistas desde arriba en (C), en donde se puede apreciar la cavidad alveolar que se procesó posteriormente para su estudio, y desde la parte posterior (D).

La mandíbula estuvo fijada con la integridad del cuerpo en una solución conservadora de cadáveres de:

Formol	5%
Propilenglicol	5%
Isopropanol	10%
Benzal	1%
Ácido fénico	5%
Agua	74%











Fig. IV.1 Mandíbula humana, utilizada para la obtención de las muestras de estudio de este trabajo de tesis. A)Vista de frente, B)vista de perfil ¾. Las flechas indican la cavidad alveolar de dientes anteriores, cavidad alveolar de dientes posteriores y base de la mandíbula; C) vista desde arriba, D) vista desde la parte posterior. Las flechas indican el alvéolo de dientes anteriores y dientes posteriores.



Corte y pulido de la muestra:

Se realizó el primer corte de la mandíbula con un arco de calar (Fig, IV.2). Se cortó a la mitad (Fig, IV.3) y en una de las mitades se realizaron dos cortes más: el primero a nivel del canino (Fig. IV.4) y el segundo a nivel del segundo molar(Fig.IV. 5). Las flechas indican la zona del alvéolo dental y la zona de la base de la mandíbula.



Fig. IV.2Corte de la mandíbula con arco de calar.



Fig. IV.3 Hemimandíbula.





Fig. IV.4 Corte a nivel del canino.



Fig. IV.5 Corte a nivel del segundo molar.

Cada una de las muestras se monta en una base de material termoplástico y se coloca en un protamuestras. Con la cortadora de disco de diamante que se encuentra en el Laboratorio de Materiales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología (Fig.IV.6) se obtuvieron tres muestras más de cada zona a estudiar. Los cortes se hicieron de tal manera que se generaron muestras que van desde la región del diente a la base de la mandíbula. Estos cortes tienen un ancho de aproximadamente medio centímetro. (Fig.IV.7).



Fig. IV.6 Muestra montada para realizar el corte con la cortadora de diamante.







Fig. IV.7 Cortes realizados con la cortadora de diamante de aproximadamente medio centímetro.

Una vez cortadas las muestras se procedió a desgastarlas con lijas de carburo-silicio del n^{o.} 1200 al 3000 progresivamente, con agua. Ya con la muestra plana se realizó el pulido con un paño y alumina de 5.0micras diluida en agua destilada, posteriormente se cambió a alumina de 0.3micras diluida en agua destilada por último se usó alumina de 0.05micras diluida en agua. El pulido final se realizó con un paño y suspensión pulidora Buehler Master polish.(Fig.IV.8)





Fig. V.8 Pulido de la muestra con paño y alúmina. La flecha señala la muestra



Fig. IV.8. A) Secuencia del pulido



Muestras para microscopia electrónica de barrido (MEB)

El MEB nos permite estudiar la morfología de las muestras, así como obtener su análisis químico, por lo tanto la muestra se preparó de la siguiente manera: Una vez pulidas las muestras, se limpiaron por 5 periodos de 15min cada uno con agua destilada dentro de un limpiador ultrasónico Branson 1200 (Fig. IV.9).



Fig. IV.9 Lavado ultrasónico de las muestras.

Con las muestras limpias, se procedió al ataque químicamente con ácido fosfórico al 100% por 1min y dando un lavado de agua destilada.(Fig.IV.10).



Fig. IV.10. Ataque químico y lavado de las muestras.



El corte obtenido se montó en un protamuestras cilíndrico para MEB, se fijó con cinta adhesiva de doble cara (Fig. IV.11) antes de proceder a su observación al microscopio electrónico de barrido (MEB) JEOL JSM-5600 LV y su registro microfotográfico. Este equipo se encuentra en el Instituto de Física de la UNAM. (Fig. IV.11a)



Fig. IV.11 Muestras montadas en portamuestras cilíndrico.



Fig. IV.11a microscopio electrónico de barrido (MEB) JEOL JSM-5600 LV



Preparación de muestras para Difracción de Rayos X

Se tomaron tramos del tejido duro a investigar (alveolo dental y base del hueso mandibular) y se procedió a su pulverización en un amalgamador SEMADI. Se molió durante 15 minutos por cada muestra, se obtuvo un polvo fino.(Fig. IV.12) Se usó un portamuestras de calentamiento para un difractómetro de rayos X, con un rango de entre 8,000° a 70,000°.(Fig. IV.13).



Fig. IV.12 Amalgamador SEMADI y polvo obtenido del hueso.



Fi.g.IV.13 Difractómetro de rayos X.



Análisis químico con EDS

La muestra preparada para el MEB se analizó con el mismo microscopio que cuenta con un analizador EDAX-DX PRIME, barriendo las muestras tramo por tramo y obteniéndose su composición química.

Preparación de muestras para estudio de Dureza

Con la idea de obtener resultados que nos permitan lograr una mejor caracterización del tejido duro a investigar se llevaron a cabo análisis de microdureza. Se procedió a la preparación de las muestras tomando dos porciones de tejido de cada muestra correspondiente a la parte del alvéolo dental (de 2mm por 2mm), se montan en una base de material termoplástico de forma cuadrada y se procede al pulido con una pulidora BUEHLER MINIMET 1000. El primer paso se realizó con un paño y alumina de 5.0micras diluida en agua destilada, posteriormente se cambió a alumina de 0.3micras diluida en agua destilada por último se usó alumina de 0.05micras diluida en agua. El pulido final se realizó con un paño y suspensión pulidora Buehler Master polish. (Fig.IV.14)



Fig. IV.14 Cortes de alvéolo montadas en material termoplástico.

Una vez pulidas las muestras, se llevó a cabo el análisis de microdureza a diferentes distancias del alvéolo dental en un durómetro Matsuzawa MHT2 que se encuentra en el Instituto de Física de la UNAM(Fig. IV.15).



Fig. IV.15 Análisis de dureza



V. Resultados

La mandíbula humana utilizada en este trabajo de tesis fue procesada para estudios anatómicos. Se obtuvieron sólo las partes óseas mandibulares y se les tomaron fotografías observando la integridad dentaria y mantenimiento óseo. Además, se obtuvo una ortopantomografía en el Departamento de Radiología de la Facultad de Odontología UNAM. Se tomaron radiografías dentoalveolares de las zonas a estudiar para ubicar la posición dental.

En la figura V.1 observamos la ortopantomografía de la mandíbula a estudiar, que en este caso nos sirve para detectar que los dientes si corresponden a la mandíbula y que tienen las posiciones correctas en las cuales esta investigación se puede llevar a cabo.

Las flechas indican la base de la mandíbula y la región alveolar de dientes anteriores y posteriores que es el objetivo de esta tesis. Se puede observar que los dientes corresponden a la mandíbula, no existen lesiones ni en hueso ni en los dientes, tampoco fracturas. Es importante mencionar que el individuo tuvo en vida una dentadura sana y no muestra lesiones en el hueso.

En la figura V.2 se observan radiografías dentoalveolares tomadas de la zona específica que se quiere estudiar, en este caso de dientes anteriores y posteriores, para verificar que los dientes pertenecen al alvéolo y que el hueso está en condiciones normales, sin lesiones que puedan alterar nuestro estudio. En A) se observa el hueso trabecular o hueso esponjoso que contiene tanto tejido vascular como tejido nervioso y se puede observar una integración de los dientes. En B) se muestra la radiografía de dientes posteriores.





Fig. V.1 Ortopantomografía de la mandíbula utilizada para la obtención de las muestras de este estudio en este trabajo de tesis. Las flechas indican la base de la mandíbula y la región alveolar de dientes anteriores y dientes posteriores . El individuo tuvo una dentadura sana y no muestra lesiones en el hueso.







En la figura V.2 A) Radiografía dentoalveolar de dientes anteriores. B) Radiografía dentoalveolar de dientes posteriores. En ambas se observa la inserción de los dientes en el alvéolo. Las flechas señalan el hueso trabecular que rodea a las piezas dentales.



Microscopía de Luz

Después del corte de la mandíbula, las muestras fueron procesadas de acuerdo al método de preparación señalado en el Capítulo IV.

En la figura V.3 se observa la muestra de alvéolo y base mandibular de dientes anteriores, en la cuál se realizó la observación por microscopía de luz. Dicha observación fue realizada en 3 zonas, 1)zona más cercana al alvéolo dental, 2) área entre el alvéolo dental y la base mandibular, 3) zona de la base mandibular.

En la zona 2 se realizó la observación sobre hueso esponjoso, en las zonas 1 y 3 se observó hueso compacto. Podemos mencionar que fisiológicamente las fuerzas que van a actuar de manera anterior, que son para corte, van a ser soportadas por hueso compacto y las de función masticatoria tienen una especie de activación, soporte, una fuerza ténsil diferente.

En la figura V.4 en A) se observa la zona 1, la más cercana al alvéolo dental, se ve el hueso compacto y su relación con la raíz. En B) se presenta una micrografía de esta misma zona con un aumento de 50x y podemos observar en la parte inferior lo que corresponde a la raíz del diente y en la parte superior lo que es parte del hueso compacto. C)misma zona a un aumento de 100x, D) proviene de la zona más cercana del ápice del diente y está a una amplificación de 200x. En estas micrografías podemos observar los acercamientos hacia el alvéolo y las diferencias entre hueso compacto y hueso esponjoso.

En la figura V.5 en A) se observa el área entre el alvéolo dental y la base mandibular (zona 2). Básicamente consta de hueso esponjoso y una delgada capa de hueso compacto viéndolo desde la cara vestibular: B, C y D son de la misma área pero a diferentes aumentos (marcadas en la figura A con un óvalo),. En B) se observa la estructura del hueso compacto y esponjoso de esta zona a un aumento de 50x. En C) se observa la misma estructura a un aumento de 100x. En D) se presenta el hueso compacto y esponjoso de esta zona a un aumento de 200x, también se observa un conducto de Havers bien definido. El conducto de Havers es muy interesante porque nos indica las zonas en donde van a emerger tanto vasos sanguíneos de tipo arterial y venoso así como los nervios. Esta zona es bastante irrigada y se presupone que son partes de las que van a remodelar el hueso.

En la figura V.6 en A) se observa la zona de la base mandibular(zona 3); B y C corresponden a la misma zona marcado en A con el núm. 1 pero sólo es a diferentes aumentos en B) se observa por microscopía de luz la estructura del hueso de esta zona con un aumento de 50x, se observan conductos de Havers C)misma zona con un aumento de 100x, lo que está marcado corresponde a un paso de un paquete vasculonervioso, el corte esta hecho longitudinalmente por eso se observa así; D)tomado de la zona marcada en A con el núm. 2 a un mayor aumento y se observa un conducto de Havers bien definido, las características tan constantes de éstos conductos nos dan imágenes muy similares de una zona a otra. En el caso de las estructuras en las 3 áreas fueron muy similares.





Figura V.3 Muestra de alvéolo y base mandibular de dientes anteriores, 1)zona más cercana al alvéolo dental, 2) área entre el alvéolo dental y la base mandibular, 3) zona de la base mandibular.





Figura V.4 A) Zona más cercana al alvéolo dental (zona 1); hueso compacto y su relación con la raíz. B) Estructura del hueso de esta zona a un aumento de 50x donde podemos observar en la parte inferior lo que corresponde a la raíz del diente y en la parte superior lo que es parte del hueso compacto. C) aumento de 100x, D) Zona más cercana del ápice del diente con una amplificación de 200x.









Figura V.5 A) Área entre el alvéolo dental y la base mandibular (zona 2). Básicamente consta de hueso esponjoso y una delgada capa de hueso compacto viéndolo desde la cara vestibular. B) Estructura del hueso compacto y esponjoso a un aumento de 50x, C) misma estructura a un aumento de 100x. D) Hueso compacto y esponjoso de esta zona a un aumento de 200x. También se observa un conducto de Havers bien definido (flecha).







Figura V.6 A) Zona de la base mandibular (zona 3). B) Área marcada en A con el núm. 1, aumento de 50x, la flecha indica conductos de Havers. C) Misma zona con un aumento de 100x, la flecha indica un paso de un paquete vasculo-nervioso. D) Zona marcada en A con el núm. 2 a un aumento de 200x, la flecha indica un conducto de Havers bien definido.

En la figura V.7 se observa la muestra de alvéolo y base mandibular de dientes posteriores, en la cuál se realizó la observación por microscopía de luz. Dicha observación fue realizada en 3 zonas: 1)zona más cercana al alvéolo dental, 2) área entre el alvéolo dental y la base mandibular, 3) zona de la base mandibular.



En la figura V.8 en A) se observa la zona más cercana al alvéolo dental, así como parte del diente; B y C son tomadas de la misma zona que está marcada en A con el núm. 1. C es un aumento de B, es hueso compacto, y no se observan definidamente los conductos de Havers aunque si están presentes. (Se observan unas manchas negras, provocadas por la manipulación para tomar fotos). En B) se observa por microscopía de luz la estructura del hueso cercano al alvéolo a un aumento de 50x. En C) se muestra la misma estructura con un aumento de 100x. D) presenta el área marcada con el núm. 2 en la Fig. A, a mayor aumento. Básicamente se trata de hueso compacto, en el núm. 2 es más compacto y no se pueden observar los conductos claramente porque es más denso y probablemente la curvatura que va sufriendo la mandíbula provoca que los conductos de Havers no se observen bien.

En la figura V.9 en A) se observa el área entre el alvéolo dental y la base mandibular; en B) se observa la zona marcada en A con el núm. 1; C) es un aumento de la misma zona. Hueso compacto con una porción de hueso esponjoso, en esta zona no se observa ningún conducto de Havers ya que es un hueso muy denso y no fue posible observar ninguna otra zona. Es importante recordar que existió un tejido blando que es el ligamento periodontal y su función de amortiguamiento por tejido blando nos va a dar un tejido compacto que va a estar siendo presionado en la masticación.

En la figura V.10 en A) se observa la zona de la base mandibular; B, C y D son tomadas de la misma zona que está marcada en A con el núm. 1, solamente son aumentos de la misma zona. En B) se observa hueso compacto y algunos conductos de Havers que no están bien definidos, igualmente es una zona muy densa, aumento de 50x, C) con un mayor aumento se pueden observar 2 conductos de Havers un poco más definidos, pudiéndose notar que fue una zona muy vascularizada por la cantidad de conductos; D) es un aumento de la misma zona y se observa un conducto de Havers, éstos conductos están más circulares o más amplios.

El área más cercana al alvéolo es vascularizada aunque no tanto como en la base de la mandíbula que seria donde hay mayor afluencia de los nervios. El área Intermedia es un tejido menos vascularizado. Este tejido debió estar sometido a fuerzas de masticación o soporte. Es un mecanismo importante usar todos los elementos ópticos ya que nos proporcionan una visión amplia de la estructura, la cuál nos va posicionando en el estudio de lo que queremos hacer, a diferencia de la microscopía electrónica de barrido que nos permite tener una mayor profundidad de foco pero mayor amplificación, lo que hace que nos vayamos perdiendo en las amplificaciones.



Figura V.7 Muestra de alvéolo y base mandibular de dientes posteriores, 1)zona más cercana al alvéolo dental, 2) área entre el alveolo dental y la base mandibular, 3) zona de la base mandibular.









Figura V.8 A) zona más cercana al alvéolo dental, B)marcada en A con el núm. 1 estructura del hueso cercano al alvéolo a un aumento de 50x, C) misma estructura a un aumento de 100x,marcada en A con el núm. 1; D) marcado con el núm. 2 en la Fig. A, hueso compacto de esta zona a un aumento de 200x.











Figura V.9 A) Área entre el alvéolo dental y la base mandibular. B) Estructura del hueso esponjoso, marcada en A con el núm.1, a un aumento de 100x, C) misma estructura a un aumento de 200x.





Figura V.10 A) zona de la base mandibular. B) Zona marcada en A con el núm. 1, se observa hueso compacto y algunos conductos de Havers que no están bien definidos, amplificación de 50x. C) Zona marcada en A con el núm. 1. Se observan 2 conductos de Havers un poco más definidos a un aumento de 100x. D) Amplificación de la misma zona y se observa un conducto de Havers, éstos conductos son más circulares y más amplios.



Microscopía de Barrido

Para una mejor descripción de las estructuras morfológicas de los componentes de la mandíbula, las muestras se observaron por MEB, ya que tiene mayor resolución que el microscopio de luz. Las imágenes son más claras y la profundidad de foco nos da la apariencia de tridimensionalidad de la zona.

En la figura V.11, en A)se observa la muestra del alvéolo en dientes anteriores, así como la interfase entre diente y el alvéolo (espacio que ocupó el ligamento periodontal, que amortigua las fuerzas de masticación) corresponde a lo que está marcado con una flecha. En el ápice del diente se observa la salida del nervio: En B) tenemos una amplificación de la misma zona, marcada en A con un cuadro. Esta estructura es hueso compacto que es vecino al alvéolo con la interfase del tejido periodontal, lo que da lugar al soporte para el siguiente diente, tabique interdental. Se observa el ápice dental y la salida del nervio dental, marcado con un círculo. Marcado con una flecha, se muestra el espacio del ligamento periodontal y a un lado lo que corresponde a la tabla perióstica que cubre a la raíz del diente; se observa un hueso compacto con vascularización, por la presencia de conductos de Havers. En C) se presenta la amplificación de B (marcado en B con un cuadro). Es básicamente hueso compacto en el que se observa un conducto de Havers y dentro el paquete vasculonervioso.

En la figura V.12 En A) se observa la zona del hueso compacto de la muestra de dientes anteriores con abundantes conductos de Havers. En B) se muestra la misma zona a mayor aumento, marcada con un cuadro en A. Esto indica una gran actividad fisiológica, hueso que se remodela constantemente, por la presión y porque esa es su función (es la tabla ósea).

En la figura V.13 se observa el hueso esponjoso cerca de la zona del alvéolo de dientes anteriores. Es una amplificación de la Fig. V.11 A marcada con un óvalo, en la cual observamos un conducto de Havers que esta cerca de la zona del alvéolo. Se observa también parte del paquete vasculonervioso; en la parte derecha de la figura se presenta la concavidad del alvéolo que está marcado con una flecha. En esta imagen podemos observar la contigüidad entre el alvéolo y el conducto de Havers, lo que indica que se trata de una zona muy vascularizada y sensible.



En la figura V.14 se observa una muestra de alvéolo de dientes posteriores. En A) es una vista panorámica con un bajo aumento, se observa parte de la corona dental (esmalte), marcado con el núm. 1, el núm. 2 muestra parte de la raíz del diente y en el núm. 3 se muestra parte de la tabla ósea que va a cubrir a la raíz. En B) se presenta un aumento de la misma zona, indicada en A por un cuadro, el núm. 1 muestra parte de la raíz y el núm. 2 muestra el hueso compacto que se observa en A.

La figura V.15 muestra en A) un conducto de Havers que está indicado por la flecha en el hueso compacto correspondiente a la muestra en dientes anteriores, marcado en la Fig. V.14 A con un óvalo y observamos parte del hueso compacto y parte del alvéolo marcado con el núm.1. Observamos más fácilmente la contigüidad que existe entre el alvéolo y la tabla ósea. En B) se observan claramente los círculos concéntricos que rodean al conducto de Havers (marcados con una flecha), dichos círculos están formados por columnas de colágena que son otro soporte importante para el hueso y también una forma de amortiguar la masticación, también se observa un paquete vasculonervioso a mayor detalle.





V.11 A) Alvéolo en dientes anteriores y la interfase entre diente y alvéolo, marcado con una flecha. En el ápice del diente se observa la salida del nervio: En B) Amplificación de la zona, marcada en A con un cuadro. Se observa el ápice dental y la salida del nervio dental, marcado con un círculo. Marcado con una flecha, el espacio del ligamento periodontal y a un lado lo que corresponde a la tabla perióstica que cubre a la raíz del diente. C) Amplificación de B (marcado en B con un cuadro), se observa un conducto de Havers y dentro el paquete vascunervioso.









Figura V.12 A) Zona del hueso compacto de la muestra de dientes anteriores con abundantes conductos de Havers. B) Zona marcada con un cuadro en A a mayor aumento.





Figura V.13 Amplificación de la Fig. 5.11 A marcada con un óvalo. Observamos un conducto de Havers, la flecha indica parte del paquete vasculo-nervioso.



Figura V.14 Alvéolo de dientes posteriores. A) vista panorámica con un bajo aumento, se observa parte de la corona dental (esmalte), marcado con el núm. 1; el núm. 2 muestra parte de la raíz del diente y en el núm. 3 se muestra parte de la tabla ósea que va a cubrir a la raíz. B) Aumento de la zona, indicada en A por un cuadro, el núm. 1 muestra parte de la raíz y el núm. 2 muestra el hueso compacto que se observa en A.




Figura V.15 A) Conducto de Havers, indicado por la flecha, en el hueso corresponde al área marcada en la Fig. 5.14 A con un óvalo y observamos parte del hueso compacto y parte del alvéolo marcado con el núm.1. En B) se observan los círculos concéntricos que rodean al conducto de Havers (marcados con una flecha), igualmente se observa un paquete vasculo-nervioso a mayor detalle (óvalo).



Análisis por Difracción de Rayos X

Después de obtener los resultados por microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido, no tenemos información sobre la composición química del material y se recurre a análisis químico por difracción de Rayos X.

Se realizó un análisis por difracción de rayos X a las estructuras mandibulares estudiadas en este trabajo de tesis. Las muestras provienen del área al alvéolo en dientes anteriores y posteriores. Fig,V.3 muestra de anteriores(óvalo No.1), Fig. V.7 muestra de posteriores (óvalo No. 2).

En la figura V.16 se presenta el difractograma de rayos X correspondiente a la muestra de alvéolo de dientes anteriores a temperatura ambiente (25°C), el cual se correlacionó con el de la hidroxiapatita.

En la figura V.17 se presenta igualmente el difractograma de rayos X para la muestra de alvéolo de dientes posteriores, a temperatura de 25^aC, el cuál se correlacionó con el de la hidroxiapatita.

Las diferencias probables entre las figuras V.16 y V.17 serían muy pequeñas. El material es hidroxiapatita, $Ca_{10}(PO_4)_6$ (OH)₂, las líneas sobrepuestas indican las posiciones de los planos de la hidroxiapatita. No hay cambios, corresponde a hidroxiapatita de celda hexagonal que contiene los átomos de Ca, P, O e H, en una celda unitaria hexagonal y con cristalografía correspondiente al grupo P6₃/m. Si hay algún cambio éste debe de ser muy pequeño.





Fig. V.16 Difractograma de Rayos X a temperatura ambiente, del polvo proveniente del alvéolo de dientes anteriores. La indexación de los picos de este difractograma indica que se trata de los planos de la celda hexagonal de la hidroxiapatita.





Fig. V.17 Difractograma de Rayos X a temperatura ambiente, del polvo proveniente del alvéolo de dientes posteriores. La indexación de los picos de este difractograma indica que se trata de los planos de la celda hexagonal de la hidroxiapatita.



Tabla de la Hidroxiapatita

PD	F#74-0565	: QM=C	alculated(C);	d=Cal	culated; I	-Calcul	ated				PDF Card
Hyp	iroxylapati	te		1							
Ca	0 (PO4)	6(OH)2								
Rad	liation=Cu	Ka1			10-51	Lan	bda=1.54060)	Filter	a .	1.1.1
Cal	ibration=					2T=	10.831-89.52	7	Mc(R	IR)=1.0	6
Ref	Calculate	ed from 1	CSD using PC	WD-1	2++ (1997)					
	5 15 Y 16 17 18 18										
Hex	agonal - (Unknow	n), P63/m (17	6)				Z=1	mp=		
CEI	L: 9.424)	x 9.424 x	6.879 <90.0	x 90.0	x 120.0>			P.S=hP	244 (?)		
Der	nsity(c)=3.	152 De	ensity(m)=2.92	ZA M	wt=1004.6	i4 Vol	=529.09	F(30)=	999.9(.000	0,30/0)	
Ref	Sudarsar	nan, K., '	Young, R.A.								
	Acta Cry	stallogr.,	Sec. B, v25 p	1534 (1969)						
FIZ	=026204:	ATF Spe	cimen from H	olly Sp	rings, GA,	USA. S	ee POF 9-433	2.			
Stre	ong Lines:	2.81/X 2	2.72/6 2.78/5 3	3.44/4	1.84/3 1.94	1/3 2.63	2 2.26/2 8.16	/2 3.08	/2		
99	Lines, Wa	velengt	to Compute	Theta :	1.54056	(Cu), P	%-Type = Pea	k Heig	ht		
#	d(À)	I(V)	(hkl)	#	d(A)	I(V)	(hkl)	#	d(Å)	I(V)	(hkl)
1	8.16142	6.0	(100)	33	1.75482	18.9	(303)	65	1.29582	0.7	(333)
2	5.25985	2.5	(101)	34	1.71975	22.7	(004)	66	1.28391	4.4	(521)
3	4.71200	1.4	(110)	35	1.68280	1.7	(104)	67	1.27979	8.1	(243)
4	4.08071	4.4	(200)	36	1.64449	10.1	(322)	68	1.26657	3.1	(234)
5	3.88745	4.3	(111)	37	1.63228	0.3	(500)	69	1.26491	2.7	(602)
6	3.50965	1.9	(201)	38	1.61089	6.5	(313)	70	1.25649	10.3	(215)
7	3.43950	28.9	(002)	39	1.58819	2.7	(501)	71	1.24999	5.4	(342)
8	3.16953	7.8	(102)	40	1.58477	2.0	(204)	72	1.24461	4.1	(610)
9	3.08473	14.6	(210)	41	1.58153	2.0	(412)	73	1.23712	11.4	(144)
10	2.81468	100.0	(211)	42	1.57067	1.4	(330)	74	1.23504	10.3	(513)
11	2.77811	52.7	(112)	43	1.54236	7.8	(240)	75	1.22773	0.5	(305)
12	2.72047	63.0	(300)	44	1.53126	5.9	(331)	76	1.22472	2.1	(161)
13	2.62992	22.3	(202)	45	1.50500	6.0	(241)	77	1.22166	13.1	(252)
14	2.52983	4.5	(301)	46	1.50209	9.7	(124)	78	1.18807	0.7	(225)
15	2.35600	0.2	(220)	47	1.47465	15.1	(502)	79	1.18391	1.2	(504)
16	2.29645	6:0	(212)	48	1.46583	3.1	(510)	80	1.17800	4.3	(440)
17	2.26357	24.9	(130)	49	1.45365	14.5	(304)	81	1.17567	2.9	(135)
18	2.22890	2.1	(221)	50	1.45028	18.0	(323)	82	1.17034	1.4	(162)
19	2.20753	0.4	(103)	51	1.43365	13.7	(511)	83	1,17034	1.4	(603)
20	2.15016	7.2	(131)	52	1.40655	4.2	(143)	84	1.16592	1.7	(700)
21	2.13372	1.5	(302)	53	1.38906	0.2	(224)	85	1.16110	2.4	(441)
22	2.06183	6.1	(113)	54	1.36936	0.8	(314)	86	1.15976	2.4	(334)
23	2.04036	1.5	(400)	55	1.36024	0.4	(600)	87	1.15805	8.7	(433)
24	1.99902	4.8	(203)	56	1.35666	0.4	(105)	88	1.14822	8.3	(244)
25	1.95612	1.0	(401)	57	1.34848	4.2	(512)	89	1.14650	4.2	(006)
26	1.94372	40.7	(222)	58	1.34173	0.8	(430)	90	1.14070	0.5	(405)
27	1.89084	18.3	(132)	59	1.33440	0.2	(601)	91	1.13541	4.2	(106)
28	1.87236	6.2	(230)	60	1.32977	0.4	(503)	92	1.13541	4.2	(523)
29	1.84027	47.7	(213)	61	1.32066	0.9	(115)	93	1.13179	2.5	(260)
30	1.80663	24.9	(321)	62	1.31691	7.7	(431)	94	1.11558	6.1	(514)
31	1.78097	18.3	(140)	63	1.30687	6.0	(520)	95	1.11400	10.4	(116)



Análisis químico por EDS

También se realizó el análisis químico por espectroscopía de dispersión de energía de los rayos X característicos (EDS). Los resultados mostraron los componentes principales del hueso cercano a la unión diente- alvéolo y al alvéolo para dientes anteriores y dientes posteriores.

Este es un análisis es muy puntual, en un área alrededor de unas décimas de micra. Se realiza análisis tanto en el alvéolo como en el hueso (base de la mandíbula) de la muestra de dientes anteriores y posteriores. Como resultado se tiene a parte de elementos normales de la hidroxiapatita: Ca, P, O, H, hay otros elementos con un porcentaje muy pequeño en comparación con los elementos de la hidroxiapatita.

Las figuras de V.18 a V.21 muestran el análisis obtenido del alvéolo y base mandibular en la muestra de dientes anteriores y posteriores. Los espectros muestran elementos adicionales como Si, Cl, Al y S.

Revisando las tablas de concentración encontramos que, el Al es muy pequeño y puede entrar como una impureza excepto en el análisis para alvéolo de dientes posteriores que es de 1.40. El Si se presenta en todos los casos, mayoritariamente de 9.57 en la base mandibular de la muestra de dientes posteriores y en alvéolo de dientes anteriores de 8.89% atómico. En las otras zonas se muestra muy pequeño de 2.43 y 1.66 en la base mandibular de dientes anteriores.

Se observa concentración de azufre, que es muy pequeño excepto en base mandibular de dientes posteriores, la cual muestra una concentración de 2.63 en %atómico y es muy pequeña en la base mandibular de la muestra de dientes anteriores y en alvéolo de dientes posteriores, los cuáles están alrededor de 0.1% atómico. Lo mismo pasa en alvéolo de anteriores, que es alrededor de 1%, en la base mandibular de la muestra de dientes posteriores es de 2.63% atómico.

Existió material orgánico en las muestras y el origen de éstos elementos debe ser este material. Por ejemplo: el azufre es un resultado de la degradación de las proteínas que estaban unidas por puentes sulfuro (disulfuro) y coincide que existe en la parte anterior de la mandíbula, que comparado con la parte del mentón (base de la mandíbula en dientes anteriores) hay mucha mayor cantidad de sulfuros, por que en ésta área se agrega o existe mayor cantidad de paquetes vasculonerviosos y soportes de colágena, aunque ésta perdura mayor tiempo.

En el área anterior existe una mayor vascularidad por la fisiología de los dientes anteriores, en los cuáles salen de uno en uno vasos sanguíneos, entran arterias y salen nervios y venas y todas van teniendo una continuidad, aunque si debe de ser que exista mayor cantidad en el mentón, ya que los nervios entran por el conducto mentoniano, cerca de los premolares y existe por eso mayor cantidad en el mentón, y en el caso de los posteriores por la presencia del conducto posteriores.



Los elementos que más resaltan son el S, Si, Al(en una concentración muy pequeña en realidad). El Si pudiera también tener su origen en las lijas, que es carburo de silicio y que al momento de preparar las muestras hayan quedado residuos, por eso se observa tanto carbón como silicio. La presencia del oxígeno se da ya que el material orgánico presenta oxígeno. Como el diente tiene varios conductos seguramente algún residuo de la preparación de la muestra quedó en el material.

En conclusión el EDS nos da como resultado, aparte de la hidroxiapatita encontrada en los resultados de difracción de Rayos X, residuos de otros elementos ya mencionados. En las tablas 1 y 2 se presenta la composición química de los dientes anteriores y posteriores.

Un resultado interesante al analizar las tablas es la concentración de Ca y la de P, que es muy similar tanto en la muestra de dientes anteriores como en la muestra de dientes posteriores.

Sin embargo, el Ca en ambos casos presenta una disminución de la parte alveolar hacia la base de la mandíbula. En alvéolo de la muestra de dientes anteriores el Ca presenta un 21% y en su base 42.73%.

En el caso de la muestra de dientes posteriores, el alvéolo presenta 46.96% atómico, mientras que la base presenta 9.61%, disminuye considerablemente. En la muestra de dientes anteriores, el alvéolo presenta el 42.73% atómico y la base de la mandíbula 21% atómico, es decir, el alvéolo tanto en dientes anteriores como en los posteriores tiene mayor Ca que en la base. Siendo la muestra de dientes anteriores la que presenta en la base una mayor concentración de Ca.

En el caso del P tenemos 15.37% atómico en la muestra de dientes anteriores en alvéolo y en la base de la mandíbula baja a 10.14%; en la muestra de dientes posteriores tenemos en alvéolo 14.12% y baja a 7.29% en la base de la mandíbula. Existe disminución de P, entonces hay más calcio en los alvéolos.

El alvéolo en la muestra de dientes anteriores tiene una relación Ca/P de 2.7 mientras que en la base de la mandíbula es de 2.1, es muy parecido, sin embargo, en el alvéolo existe más Ca que en la base.

Mientras que en la muestra de dientes posteriores, en el alvéolo la relación Ca/P es de 3.33, muy alto con respecto a la base que es de 1.32. Es decir, tenemos una relación muy alta en alvéolos posteriores.

Probablemente, el hecho de que en ambos alvéolos haya mayor cantidad de relación Ca/P comparados con la base indica que la mayor cantidad de remodelación ósea se lleva a cabo en los alvéolos.



La remodelación ósea es mayor en dientes posteriores que en dientes anteriores, por mayor carga masticatoria. Los dientes anteriores tienen una función de corte y los posteriores de trituración, entonces existe mayor fuerza durante la masticación. Por lo tanto, debe de existir una mayor remodelación ósea en los alvéolos de los dientes posteriores.

Las concentraciones en el Silicio son muy parecidas, 9% en la muestra de dientes posteriores y casi 9% en la de dientes anteriores. En ambos casos, la base de la mandíbula tiene mayor silicio que los alvéolos.

El S se comporta de manera muy parecida: en la muestra de dientes posteriores tenemos 2.63% y en la muestra de anteriores 1.3%.





Fig. V.18 Espectro de EDS del alvéolo de la muestra de dientes anteriores. Nótese que la razón Ca/P es de 2.7.



Fig. V.19 Espectro de EDS del hueso de la base de la mandíbula en dientes anteriores. Nótese que la razón Ca/P es de 2.1.





Fig. V.20 Espectro de EDS del alvéolo en dientes posteriores. Nótese que la razón Ca/P es de 3.33.



Fig. V.21 Espectro de EDS del hueso de la base mandibular en dientes posteriores. Nótese que la razón Ca/P es de 1.32.



Tabla V.I Composición química de la muestra de dientes anteriores

Elemento químico	% Atóm en alveolo	% Atóm en base de hueso mandibular.
С	11.92	18.15
0	28.06	39.44
Р	15.37	10.14
Са	42.73	21.02
S	0.09	1.03
AI	0.18	0.94
Si	1.66	8.89

Tabla V.II Composición química de la muestra de dientes posteriores

Elemento químico	% Atóm en alvéolo	%Atóm en base de hueso mandibular.
С	11.49	36.27
0	23.50	34.08
Р	14.12	7.29
Са	46.96	9.61
S	0.10	2.63
AI	1.40	0.54
Si	2.43	9.57



Dureza

Con la idea de obtener resultados que nos permitieran lograr una mejor caracterización del alvéolo dental y del hueso cercano a éste se llevaron a cabo análisis de microdureza. Hemos diseñado un método para medir la dureza en las diferentes partes de la mandíbula, esquemáticamente se representa en la figura V.22, en la cual se muestran los diferentes puntos del análisis.

Para realizar el análisis de dureza en dientes anteriores se realizó un mapeo en el espesor de las muestras en el área cercana al alvéolo, adentrándonos en éste y hasta el área de la base de la mandíbula, registrando la dureza a diferentes distancias del alvéolo. En este mapeo se tomaron un promedio de 15 medidas en la zona del alvéolo tanto para dientes anteriores como para dientes posteriores.

Para el análisis en el alvéolo se quitó el diente incluida la raíz y se tomo una pequeña porción de alvéolo por la cara vestibular, de aproximadamente 5mm en forma cuadrada. Esto se realizó porque el alveolo tiene una profundidad diferente a la del resto de la muestra y no era posible que el indentador tocara toda la zona. Se montó en un material termoplástico y se procedió al análisis de dureza. Se realizó en tres áreas, con 5 indentaciones en cada una. El área 1 esta marcada en la figura V.23A por el no.1, la segunda en la figura V.23A con la línea no. 2 y el área 3 con el núm. 3 en la misma figura.

En la Fig., V.23B se muestra la primera zona donde se realizó el análisis, se tomaron 5 puntos esquematizados en la Fig. V.23B; en la V.23C se muestra la zona 2y en la V.23 D la 3ª. Zona. Las Fig. V.23E y F son de una vista en MEB de una de las zonas de la línea 1 y 2 y se ve claramente la forma de las indentaciones.





Fig. V.22 Imagen de microdureza. El indentador es un diamante en forma de pirámide cuadrangular. Para conocer la dureza, se miden las diagonales de la pirámide y se utiliza la ecuación comentada en el capítulo II.





Fig. V.23. A) Análisis de microdureza en el alvéolo de dientes anteriores. Las líneas muestran la zona en dónde se realizaron las indentaciones para las medidas de dureza, B) primera zona donde se realizó el análisis. Se tomaron 5 puntos esquematizados. C) zona 2 donde se realizó el análisis, igualmente se tomaron 5 puntos. D) se muestra la 3ª. Zona (3.1-3.5) E y F) vistas de MEB de la zona 1 y 2. Se ve claramente la forma de las indentaciones.



Los resultados del análisis de dureza del alvéolo en dientes anteriores se muestran en la tabla V.III en dureza Vickers (VHN). En la tabla la línea 1.1 - 1.5 corresponde al No. 1 de la Fig. V.23A, la línea 2.1 - 2.5 corresponde al núm. 2 de la fig. V.23A y la línea 3.1 - 3.5 corresponde al núm. 3 de la V.23A.

En la línea 1 tenemos una dureza que va de 28 a 36 VHN, en la línea 2 una dureza que va de 20 a 26 VHN y en la línea 3 que es perpendicular a las anteriores tenemos una dureza de 25 a 28 VHN. Podemos decir que la línea 3 presenta una menor variación en la dureza que las otras líneas que son paralelas. La línea 1 presenta mayor variación en la dureza que la 2 pero la 3 es la menor y su dureza está alrededor de 25.

Dentro de la desviación estándar, que es +/-4.3, podríamos decir que la dureza de esta zona es alrededor de 27VHN. Con respecto al alvéolo de la muestra de los dientes posteriores, es necesario decir que la gráfica que se presenta es comparativa, no se puede tomar de otra forma, para comparar las líneas 1, 2 y 3.



Tabla V.III Análisis de Microdureza de alvéolo en dientes anteriores

Tiempo: 30 seg. Peso: 25g.

DISTANCIA 0 DENTRO DEL ALVÉOLO.	DIAG. HORIZONTAL	DIAG. VERTICAL	PROMEDIO	DUREZA VICKERS
Línea 1				
1.1	39.5	38.5	39	30.5
1.2	36.5	34.5	35.5	36.8
1.3	34	39	36.5	34.8
1.4	44.5	44	44.25	23.7
1.5	39.5	41.5	40.5	28.3
			Promedio	30.82
			Desviación Estándar	+/-5.2
Línea 2				
2,1	42	47.5	44.75	23.2
2.2	48.5	47	47.75	20.4
2.3	45	42	43.5	24.5
2.4	42.5	40	41.25	27.3
2,5	38.5	45.5	42	26.3
			Promedio	23.34
			Desviación Estándar	+/-2.7
Línea 3				
3.1	41	39.5	40.25	28.7
3.2	45	40.5	42.75	25.4
3.3	40.5	40.5	40.5	28.3
3.4	40.5	40.5	40.5	28.3
3.5	42.5	43.5	43	25.1
			Promedio	27.16
			Desviación Estándar	+/-1.75
			Dureza Promedio Total	27.4
			Desviación Estándar Total	+/-4.3





Gráfica V.I Dureza en el alvéolo de dientes anteriores. La dureza de ésta oscila entre 20.4 y 36.8 VHN. Como se trata de la misma zona, se promediaron las cantidades para obtener una sola medida que es llamada distancia 0, porque es el área del alvéolo. El promedio de dureza del alvéolo es de 27.44VHN con una desviación estándar de 4.3.

En la Fig., V.24 se presentan las imágenes del alvéolo en dientes posteriores. Igual que en la de anteriores, se tomó un fragmento del alvéolo y se realizó el análisis en tres zonas, en la Fig., V.24A con el núm. 1,2 y3. En la Fig. V.24B se muestran las líneas 1y 2, la línea núm. 3 se representa en la Fig. V.24C. La Fig. V.24D muestra la línea 1 y 2 en MEB, con las indentaciones bien marcadas. Los resultados de estas medidas de dureza se presentan en la tabla V.IV, en la cual están las tres líneas en valores Vickers. La línea 1 es la que presenta mayor dureza con respecto a la línea 2 y 3. La línea 1 tiene una variación grande ya que su desviación estándar va desde 27 a 66 VHN. En la línea 2 una variación que va desde 16 hasta 27VHN, que es comparativa porque son dos líneas paralelas más o menos en la misma distancia. La línea 3 también presenta mucha variación con respecto a la 1 ya que va desde 19 hasta 32VHN.

En la gráfica V.II podemos ver que la línea 1 es la que presenta mayor variación y mayor dureza, la línea 2 está constante más o menos alrededor de 20 y la línea 3 más o menos parecido a la línea 2. Comparando las dos gráficas, la línea 1 es la que presenta mayor dureza. En los dientes anteriores la dureza va alrededor de 35 y se presenta un promedio alrededor de 28. En posteriores la dureza se va a 66, lo cual era de esperarse.







Fig. V.24 A) Alvéolo de dientes posteriores. Las líneas muestran la zona en dónde se realizaron las indentaciones (1,2 y 3) para las medidas de dureza. B) Indentaciones vistas al microscopio óptico a 40X en las líneas 1 y 2. C) Indentaciones realizadas en la línea 3. D) Indentaciones realizadas en la línea 1 y2.



Tabla V.IV Análisis de microdureza del alvéolo en dientes posteriores

Tiempo: 30seg. Peso: 25g.

DISTANCIA 0	DIAG. HORIZONTAL	DIAG. VERTICAL	PROMEDIO	DUREZA VICKERS
Línea 1				
1.1	28.3	29	26.65	56.7
1.2	28.3	24.5	26.4	66.5
1.3	41.5	40	40.75	27.8
1.4	42.5	38	40.25	28.7
1.5	41.5	41	41.2	27.2
			Promedio	41.4
			Desviación estándar	18.8
Línea 2				
2.1	41.5	42.5	42	26.3
2.2	40.5	41.5	41	27.6
2.3	40	42.5	41.25	27.3
2.4	45.5	43	44.25	23.7
2.5	55.5	49	52.25	16.9
			Promedio	24.36
			Desviación estándar	4.45
Línea 3				
3.1	34	41.5	37.75	32.4
3.2	47.5	48.5	48	20.1
3.3	58	52	55	19
3.4	43	51	47	21
3.5	47.5	48	47.75	20.4
			Promedio	22.6
			Desviación	5.5
			estándar	
			Dureza promedio	29.44
			Desviación Estándar	13.86





Gráfica V.II Medidas de dureza en la zona del alvéolo de dientes posteriores. La dureza de ésta oscila entre 16.9 y 66.5VHN. Como se trata de la misma zona se promediaron las cantidades para obtener una sola medida que es llamada distancia 0, porque es el área del alvéolo. El promedio de dureza del alvéolo es de 29.44VHN con una desviación estándar de 13.9

En la Fig. V.25A se muestra el corte de dientes anteriores que va desde el alvéolo hasta la base del hueso mandibular. También se marcaron los diferentes puntos donde se realizó el análisis de dureza. Tomando como distancia cero la obtenida del promedio del alvéolo, B, C, D, E y F se muestran las indentaciones realizadas en la muestra a las diferentes distancias.

En la gráfica V.III se muestran los valores obtenidos y observamos un comportamiento diferente a los posteriores. En el alvéolo tenemos una dureza de alrededor de 27 VHN y en la base de la muestra una dureza de alrededor de 33.9VHN, casi se mantiene un aumento de dureza de 25 hasta 31, 33 y casi 34 en la base. En este caso la dureza se mantiene más o menos constante.





Fig. V.25. A) Corte de dientes anteriores (desde alvéolo hasta base de la mandíbula). Se muestran los diferentes puntos en donde se realizaron las medidas de dureza, B)1^a. medida a 0.5mm del alvéolo, C) 2^a. medida a 5mm de distancia, D)3^a. medida a 10mm, E) 4^a. medida a 15mm, F) 5^a. medida a 20mm.



Tabla V.V Análisis de Microdureza a diferentes distancias del alvéolo en dientes anteriores

Tiempo: 30 seg.

Peso: 25g.

DISTANCIA	DIAG. HORIZONTAL	DIAG. VERTICAL	PROMEDIO	DUREZA VICKERS
ММ				
0				27.44
.5	43	43.5	43.25	24.8
5	38.5	38.5	38.5	31.3
10	37.5	38.5	38	32.1
15	36.5	37.5	37	33.9
20	36.5	47.5	37	33.9
			PROMEDIO	30.6 +/- 3.7



Gráfica V.III Dureza a diferentes distancias del alvéolo de dientes anteriores. Se puede observar que entre más cerca se encuentre del alvéolo la dureza es menor y conforme se aleja de éste la dureza aumenta.



En la Fig. V.26A vemos el corte de dientes posteriores y se observan 6 medidas para el hueso cercano al alvéolo de dientes posteriores. Las medidas fueron tomadas a diferentes distancias del alvéolo marcando previamente las muestras. B, C, D, E y F se muestran las indentaciones realizadas en la muestra a las diferentes distancias.

En la tabla V.VI se presentan los valores obtenidos para estas distancias. En la gráfica V.IV vemos como varía el núm. de dureza que empieza con un promedio de 29 en alvéolo hasta 26 en la base. En el centro, alrededor de 10 y 15mm es un poco duro, alcanza hasta un núm. Vickers de 46 y 42 VHN respectivamente, muy dura inclusive con respecto al alvéolo. Esto debe ser por el efecto de la función masticatoria.

El promedio en realidad no es muy importante, en total es de 30.69 +/- 9.71. Lo importante es como varía la dureza del alveolo a la base.

Haciendo una comparación entre las gráficas V.III y V.IV podríamos decir que la zona de los dientes anteriores es más dura en promedio que los posteriores. Eso se observa por la función realizada: en la base es más duro porque corresponde al mentón, un hueso compacto. Los resultados van de acuerdo a la función que realiza cada parte.







Fig. V.26. A) Corte de dientes posteriores (desde alvéolo hasta base de la mandíbula). Se muestran los diferentes puntos en donde se realizaron las medidas de dureza, B)1^a. medida a 1mm del alvéolo, C) 2^a. medida a 5mm de distancia, D)3^a. medida a 10mm, E) 4^a. medida a 15mm, F) 5^a. medida a 20mm, g) 6^a. medida a 25mm de distancia del alvéolo.



Tabla V.VI Análisis de Microdureza a diferentes distancias del alvéolo en dientes posteriores

Tiempo: 30 seg.

Peso: 25g.

DISTANCIA MM	DIAG. HORIZONTAL	DIAG. VERTICAL	PROMEDIO	DUREZA VICKERS
0				29.44
1	49	48	48.5	19.7
5	43.5	45	44.2	23.6
10	31.5	32	31.7	46.1
15	33	33.5	33.2	42
20	41.5	41	41.2	27.3
25	42.5	41	41.7	26.7
			PROMEDIO	30.7 +/- 9.71



Gráfica V.IV Dureza a diferentes distancias del alvéolo de dientes posteriores. Podemos observar que entre más cerca se encuentre del alvéolo la dureza es menor y conforme se aleja de éste la dureza aumenta.



Composición Química y Dureza

Se observa un máximo de dureza de 46.1 a una distancia de 10mm del alveolo en la muestra de dientes posteriores, por lo cual se realiza un análisis químico a esta zona específica, el cual se muestra en la fig. V.27. La dureza es constante en los dientes anteriores. Las gráficas V.V y V.VI muestran la dureza tanto para dientes anteriores como para posteriores, comparándola con la relación Ca/P.



Element	Atom %	Element	
		Wt %	
Si-K	2,22	2,03	
0 -K	21,07	10,98	
Ca-K	52,52	68,58	
Р-К	14.48	14.61	
С -К	9,71	3,80	
Total	100.00	100.00	
	• • •	• • •	Relación $Ca/P = 3.62$

Fig. V.27 Muestra la composición química en el área de dientes posteriores que presentó mayor dureza (46.1VHN) a 10mm de distancia del alvéolo.





Gráfica V.V Muestra la comparación entre la dureza y la relación Ca/P en la muestra de dientes posteriores.



Gráfica V.VI Muestra la comparación entre la dureza y la relación Ca/P en la muestra de dientes anteriores.



Capítulo VI. Discusión.

Microscopía

Los resultados obtenidos con la microscopía de luz y la microscopía electrónica de barrido son congruentes. Con el microscopio electrónico de barrido fue posible estudiar a mayor detalle las estructuras que forman a la mandíbula, y que ya fueron ampliamente comentadas en los resultados.

Análisis Químico

Los resultados de Rayos X mostraron que las muestras están formadas por hidroxiapatita. Lo importante es el análisis por EDS en el que se observan una cantidad de elementos que no corresponden a la hidroxiapatita y que parece que tienen un origen en la función de la mandíbula y una mayor calcificación en alvéolo, principalmente en la muestra de dientes posteriores. Sin embargo, el alvéolo mostró más calcio que la base y esto se debe claramente a su composición orgánica y a la función masticatoria.

Con respecto a los elementos, encontramos Si, Al y S con mayor concentración en la base de la mandíbula con respecto al alvéolo, que corresponde también al tipo de función de la mandíbula, soporte, masticación y llevar elementos proteicos y nutritivos y la constitución de vasos sanguíneos.

Otro probable origen de los elementos debe ser la forma en que se conservó la mandíbula pero los conservadores no tienen Si, ni Al. Probablemente se debe a la preparación de la muestra, ya que se empleó lija que contiene silicio.

La mayor concentración de calcio en dientes posteriores con respecto a los anteriores principalmente en la zona del alvéolo, se debe también a su función masticatoria.

Dureza

En el caso del análisis de dureza, es de resaltarse los resultados que obtuvimos con respecto a la mayor dureza en dientes posteriores que en anteriores, esto debido a la función masticatoria, hablando sólo del alvéolo.



En la muestra completa, obtuvimos mayor dureza en dientes anteriores, en la base del hueso mandibular. Esto lo podemos explicar porque corresponde al área del mentón. Fisiológicamente, la mayor actividad de remodelación ósea está entre las tablas óseas y la condensación de hueso menos móvil es mayor en los dientes posteriores que en los anteriores. Hay hueso de remodelación en anteriores. En el mentón la remodelación es mínima, es un hueso muy compacto por eso hay mayor dureza, no es tan activa como en los alvéolos.

Composición Química y Dureza

El alvéolo presenta una mayor concentración Ca/P que la base del hueso mandibular, pero disminuye del área de dientes posteriores hacia los dientes anteriores. Esto implica que el alvéolo de la muestra de dientes posteriores presenta una mayor concentración de calcio.

La dureza es mayor, casi constante en la muestra completa de dientes anteriores que en la de dientes posteriores. Sin embargo, la muestra de dientes posteriores presenta una mayor variación y registra el punto de mayor dureza (cercano a la raíz del molar) de todos los puntos analizados en ambas muestras.

No hay una relación simple entre la concentración Ca/P y la dureza. La zona del alvéolo de la muestra de dientes posteriores presenta mas calcio y menor dureza que la zona del alvéolo en la muestra de dientes anteriores. Sin embargo, en la base mandibular la dureza presenta una cierta relación lineal en la concentración Ca/P, ya que ha medida que disminuye la concentración Ca/P, la dureza disminuye.

Todo esto confirma que nuestros resultados están de acuerdo con la función que se lleva a cabo en la mandíbula especialmente en las áreas que analizamos.

Capítulo VI. Discusión.

Microscopía

Los resultados obtenidos con la microscopía de luz y la microscopía electrónica de barrido son congruentes. Con el microscopio electrónico de barrido fue posible estudiar a mayor detalle las estructuras que forman a la mandíbula, y que ya fueron ampliamente comentadas en los resultados.

Análisis Químico

Los resultados de Rayos X mostraron que las muestras están formadas por hidroxiapatita. Lo importante es el análisis por EDS en el que se observan una cantidad de elementos que no corresponden a la hidroxiapatita y que parece que tienen un origen en la función de la mandíbula y una mayor calcificación en alvéolo, principalmente en la muestra de dientes posteriores. Sin embargo, el alvéolo mostró más calcio que la base y esto se debe claramente a su composición orgánica y a la función masticatoria.

Con respecto a los elementos, encontramos Si, Al y S con mayor concentración en la base de la mandíbula con respecto al alvéolo, que corresponde también al tipo de función de la mandíbula, soporte, masticación y llevar elementos proteicos y nutritivos y la constitución de vasos sanguíneos.

Otro probable origen de los elementos debe ser la forma en que se conservó la mandíbula pero los conservadores no tienen Si, ni Al. Probablemente se debe a la preparación de la muestra, ya que se empleó lija que contiene silicio.

La mayor concentración de calcio en dientes posteriores con respecto a los anteriores principalmente en la zona del alvéolo, se debe también a su función masticatoria.

Dureza

En el caso del análisis de dureza, es de resaltarse los resultados que obtuvimos con respecto a la mayor dureza en dientes posteriores que en anteriores, esto debido a la función masticatoria, hablando sólo del alvéolo.



En la muestra completa, obtuvimos mayor dureza en dientes anteriores, en la base del hueso mandibular. Esto lo podemos explicar porque corresponde al área del mentón. Fisiológicamente, la mayor actividad de remodelación ósea está entre las tablas óseas y la condensación de hueso menos móvil es mayor en los dientes posteriores que en los anteriores. Hay hueso de remodelación en anteriores. En el mentón la remodelación es mínima, es un hueso muy compacto por eso hay mayor dureza, no es tan activa como en los alvéolos.

Composición Química y Dureza

El alvéolo presenta una mayor concentración Ca/P que la base del hueso mandibular, pero disminuye del área de dientes posteriores hacia los dientes anteriores. Esto implica que el alvéolo de la muestra de dientes posteriores presenta una mayor concentración de calcio.

La dureza es mayor, casi constante en la muestra completa de dientes anteriores que en la de dientes posteriores. Sin embargo, la muestra de dientes posteriores presenta una mayor variación y registra el punto de mayor dureza (cercano a la raíz del molar) de todos los puntos analizados en ambas muestras.

No hay una relación simple entre la concentración Ca/P y la dureza. La zona del alvéolo de la muestra de dientes posteriores presenta mas calcio y menor dureza que la zona del alvéolo en la muestra de dientes anteriores. Sin embargo, en la base mandibular la dureza presenta una cierta relación lineal en la concentración Ca/P, ya que ha medida que disminuye la concentración Ca/P, la dureza disminuye.

Todo esto confirma que nuestros resultados están de acuerdo con la función que se lleva a cabo en la mandíbula especialmente en las áreas que analizamos.



Conclusiones

- Comparando la dureza del alvéolo de dientes anteriores y posteriores se concluye que ésta es mayor en los dientes posteriores debido a la función masticatoria y comparando la dureza de la base en ambas zonas se concluye que la dureza es mayor en la base mandibular de la muestra de dientes anteriores que en la base mandibular de la muestra de dientes posteriores por la presencia de la sínfisis mentoniana.
- 2. La relación Ca/P en los análisis químicos tuvo una constante por arriba de 2, excepto en la base mandibular de dientes posteriores, que fue de 1.32. Ésta relación para la hidroxiapatita sintética es de 1.67
- 3. En la zona del alvolo debe existir un parámetro posiblemente estructural entre el arreglo de los cristales de HAP y el arreglo del material orgánico entre sí o por separado, que juega un papel preponderante en la dureza que se presenta, como lo muestran las gráficas V.V y V.VI.
- 4. La dureza presenta una relación directa con la concentración Ca/P en la zona de la base mandibular pero una relación más compleja en la zona del alveolo.
- 5. La muestra de dientes anteriores presenta una mayor concentración Ca/P, lo que implica una mayor calcificación de la zona, siendo el área más dura aquella que presenta la mayor concentración Ca/P.



REFERENCIAS

- 1. Rubin, Ma, Rubin J, Jasiuk I, **SEM and TEM study of the hierarchical structure of C57BL/6J and C3H/HeJ mice trabecular bone.** Bone, 2004; 35:1:11-20.
- 2. Chen B, Pei GX, Liu XX, qin Y, Wang QL, **Optical, scanning electron and atomic force microscopic observation of the microstructure of human humeral bone.** Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2005; 25;4:403-6.
- 3. Holden, JL, Pherkey, JG, Scanning electron microscope observations of heattreated human bone, Fore. Sci. Int, Ireland: Elseiver Science Publisher Ltd, 1995; 74.
- 4. Tresguerres, J.J.F., **Fisiología humana**, 2^a. ed. McGraw Hill Interamericana. p.p. 983-1019, 2003.
- 5. Gutiérrez-Salazar, MP, Reyes-Gasga, J, **Microhardness and chemical composition** of human tooth, Materials Reserch, 2003;6: 3: 367-373.
- 6. Le Geros, R. Z, **Calcium phosphates in Oral Biology and Medicine**, Switzerland: S. Kangel, 1991.
- 7. Ratner, D, Buddy and Hoffman, JA., An Introduction to Materials in Medicine, 1996
- 8. Barbosa, MA., **Fundamental aspects and related clinical phenomena.** Biomateriales degradation. New Cork, N.Y.: Elseiver Science Publisher B.V.,1991



- 9. Park, J.B. and Lakes, R.S."Structure property relationships of biological materials". En Biomaterials: an introduction. New Cork: Plenum Press, 1992. Chapter 9
- 10. Friedman SR, Estructura y comportamiento térmico de la hidroxiapatita del hueso mandibular humano, Tesis de Maestría, UNAM, 2002.
- 11. Gómez de Ferraris, María Elsa, **Histología y Embriología bucodental,** 2^a. Ed, 2003.
- 12. Michael H. Ross, Et. al, **Histología**, 3^a. Ed., Editorial Médica Panamericana, México, D.F., 1999, p.p. 149-165.
- 13. Geneser, Finn, Histología, 3^a. ed, Médica Panamericana.
- 14. Hobson, R S, and Bynon D, Preliminary quantitative microradiografy study into the distribution on bone mineralization within the basal bone in the human edentulus mandible. Arch Oral Biol, 1997; 42: 7: 497-503.
- 15. Gómez Ortega JL, Elizondo Villarreal N, **Visualización cristalográfica de la hidroxiapatita,** Ingenierias , 2004;VII,:24:46-50.
- 16. Díaz, JR, **Preparación y caracterización de prótesis de hidroxiapatita para globo ocular**, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 1998.
- 17. Yacaman, Reyes Gasga. **Microscopia electrónica. Una visión del microcosmos.** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Fondo de cultura económica, 1998.



18. Lawrence H. Van Vlack. Materiales para Ingenieria. C.E.C.S.A. México, 1988.

- 19. Blumenthal, NC, Betts, F, Posner, AS, Formation and structure of Ca deficient hydroxyapatite, Calcio Tissue, 1981;33: 11-17.
- 20. Davide, Z, et. al, Morphofunctional and clinical study on mandibular alveolar distraction osteogenesis, Clinical Oral Implants Research, 2002;13: 50
- 21. Gross JK., Mehemel MJ., Zeits K, 75.. 1930 p. 323.
- 22. Guyton, A.C. **Tratado de fisiología humana.** México: McGraw-Hill Interamericana, 1989.
- 23. Leroy, G. Penel N. Leroy and E. Brès, Human Tooth enamel: A Raman Polarized Approach. Applied Spectroscopy 56: No. 8 20023.-Mc Kelvey J.P. Física del estado sólido y semiconductores. México Limusa, 1996.
- 24. Martínez C.A, Martínez A Formación de hidroxiapatita sobre una superficie polimérica por un método biomimético. Rev. Mex de Ing Biom, 2000; XXI:4.
- 25. Stephen Mann, **Biomineralization Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry**, Oxford Chemistry Masters 2001Schultz B,P: Espectroscopía Infrarroja. México Universidad de Guadalajara, 1993.
- 26. http://www/.univap.br-landulfo/pesq3.htm